Pötzsch
Madlener



# Hämostaseologie

Grundlagen, Diagnostik, Therapie

2. Auflage

unter Mitarbeit von
M. Gawaz
C. Mannhalter
M. Geiger
H. Langer



Springer

B. Pötzsch (Hrsg.)

K. Madlener (Hrsg.)

**Hämostaseologie**

2., vollständig aktualisierte und erweiterte Auflage

unter Mitarbeit von

M. Gawaz, C. Mannhalter, M. Geiger, H. Langer

B. Pötzsch (Hrsg.)
K. Madlener (Hrsg.)

---

Begründet von G. Müller-Berghaus

# Hämostaseologie

**2., vollständig aktualisierte und erweiterte Auflage**

Mit 198 Abbildungen und 163 Tabellen

unter Mitarbeit von
M. Gawaz, C. Mannhalter, M. Geiger, H. Langer



**Prof. Dr. Bernd Pötzsch**
Institut für Experimentelle Hämatologie
und Transfusionsmedizin
Universitätsklinikum Bonn
Sigmund-Freud-Straße 25
53105 Bonn

**Dr. Katharina Madlener**
Kerckhoff Klinik
Benekestraße 2–8
61231 Bad Nauheim

**Ihre Meinung interessiert uns: www.springer.com/978-3-642-01543-4**

**ISBN 978-3-642-01543-4 Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York**

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek
Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über http://dnb.ddb.de abrufbar.



**SpringerMedizin**
Springer-Verlag GmbH
ein Unternehmen von Springer Science+Business Media
springer.de



Printed in Germany



Planung: Dr. Sabine Höschele, Heidelberg
Projektmanagement: Cécile Schütze-Gaukel, Heidelberg
Copy Editing: Frauke Bahle, Karlsruhe; Dr. Doortje Cramer-Scharnagl, Edewecht
Layout und Umschlaggestaltung: deblik Berlin
Satz: Fotosatz-Service Köhler GmbH – Reinhold Schöberl, Würzburg

SPIN: 10782971

Gedruckt auf säurefreiem Papier 2111 – 5 4 3 2 1 0

# Vorwort

Gibt es in den Zeiten der durch das Internet schnellen Verfügbarkeit von Fachartikeln, Review-Artikeln, Guidelines und anderen Informationen eine Notwendigkeit ein Buch zur Hämostaseologie herauszugeben?

Auf den ersten Blick nicht, zumal ein Buch, das aufgrund der Komplexität des Querschnittfachs Hämostaseologie ein Vielautorenbuch sein müsste und das damit fast zwangsläufig den Nachteil einer eingeschränkten Aktualität durch die relativ lange Zeitspanne zwischen der Konzeption und der Auslieferung haben würde.

Nach intensiven Diskussionen haben wir uns für eine Neuauflage entschlossen. Wir glauben, dass kein Review ein derartiges Buch adäquat ersetzen kann. Erleichtert wurde unser Entschluss aber vor allem dadurch, dass es gelang das Herausgeberteam zu erweitern. So konnten wir uns nicht nur fachlich verstärken, sondern die Betreuung der einzelnen Autoren und Themenfelder wesentlich verbessern. Herr Professor Gawaz hat zusammen mit Herrn Privatdozent Langer die Betreuung der thrombozytären und kardiovaskulären Themenfelder übernommen. Ihre Expertise in der plasmatischen Gerinnung und der Fibrinolyse haben unsere Wiener Kolleginnen Frau Professor Mannhalter und Frau Professor Geiger eingebracht und dadurch diese Abschnitte des Buches entscheidend geprägt. Ohne das Engagement des neuen Teams hätten wichtige Fragestellungen im Buch nicht angesprochen werden können.

Dank der Disziplin der Autoren ist es gelungen, den Zeitraum der kompletten Manuskripterstellung in einem noch vertretbaren Rahmen von etwas mehr als zwei Jahren zu halten. Dafür und für die hohe Qualität der einzelnen Beiträge möchten wir uns bei allen Autoren bedanken. Auch dem Team des Springer-Verlages, Frau Dr. Höschele, Frau Schütze-Gaukel, Frau Kiefer und Frau Bahle, danken wir für die gute Zusammenarbeit.

In der Konzeption des Buches wurde darauf geachtet die verschiedenen klinischen Aspekte der Hämostaseologie gleichwertig den Grundlagen des Faches gegenüberzustellen. Um eine schnelle Orientierung zu ermöglichen, steht jedem Kapitel eine kurze Zusammenfassung voran.

Sollten Sie das Buch entgegen unseren Erwartungen nicht in Ihrer wissenschaftlichen oder klinischen Arbeit gebrauchen können, sind vielfältige Alternativen denkbar, wie zum Beispiel:

- als Unterlage bei zu niedrigen Beamern,
- als Wurfgeschoß, falls Ihnen mal die verbalen Argumente ausgehen sollten,
- zum Repräsentieren im Bücherregal.

Sie sehen, die Arbeit am Buch hat auch einfach Spaß gemacht. Natürlich würden wir uns freuen, wenn der alternative Gebrauch des Buches auf wenige singuläre Notfälle beschränkt bleiben würde. Sie können uns Ihre Meinung, Kommentare und natürlich auch Kritikpunkte unter www.gerinnungskonsil.de mitteilen.

Bonn und Bad Nauheim im Herbst 2009
Bernd Pötzsch und Katharina Madlener



# Inhaltsverzeichnis

## III Das plasmatische Gerinnungssystem

# IV Das fibrinolytische System

# V Hämostasestörungen

## VI Hämostasestörungen im Kindesalter



## VII Das hämostaseologische Konsil

# IX Labordiagnostik

# Autorenverzeichnis

**Prof. Dr. Susanne Alban**
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
Pharmazeutisches Institut
Gutenberg-Straße 76
D-24118 Kiel

**Dr. Jürgen Bach**
Klinikum der Stadt Ludwigshafen
am Rhein gGmbH
Bremserstraße 79
D-67063 Ludwigshafen

**Prof. Dr. Bernd Balletshofer**
Universitätsklinikum Tübingen
Medizinische Klinik IV
Otfried-Müller-Straße 10
D-72076 Tübingen

**Dr. Ulas Darda Bayraktar**
6770 Indian Creek Drive Apt 15F
Miami Beach, FL 33141, USA

**Dr. Angelika Bernardo**
Klinik Gais
Klinik für kardiale und psychosomatische
Rehabilitation
Gäbrisstrasse 1172
CH-9056 Gais

**Dr. Christoph Bidlingmaier**
Klinikum der Universitätsklinik München
Kinderklinik und Kinderpoliklinik
Dr. von Haunersches Kinderspital
Pädiatrisches Hämophiliezentrum
Lindwurmstraße 4
D-80337 München

**Univ.-Prof. Dr. Bernd Binder**
Institut für Gefäßbiologie
und Thromboseforschung
Zentrum für Biomolekulare Medizin
und Pharmakologie
Medizinische Universität Wien
Schwarzspanierstraße 17
A-1090 Wien

**Prof. Dr. Andreas Bircher**
Universitätsspital Basel
Allergologie/Dermatologie
Petersgraben 4
CH-4031 Basel

**Prof. Dr. Christoph Bode**
Universitätsklinikum Freiburg
Innere Medizin III/Kardiologie Angiologie
Hugstetterstraße 55
D-79106 Freiburg

**Dr. Hans-Hermann Brackmann**
Elisabethstraße 14
D-53177 Bonn

**Dr. Martin F. Brodde**
Universitätsklinik Münster
Klinik u. Poliklinik für Anästhesiologie
und operative Intensivmedizin
Abteilung für experimentelle
und klinische Hämostaseologie
Mendelstraße 11
D-48149 Münster

**Prof. Dr. Ulrich Budde**
Aesculabor Hamburg
Hämostaseologie
Haferweg 36
D-22769 Hamburg

**Prof. Dr. Peter Bugert**
Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Institut für Transfusionsmedizin
und Immunologie
Friedrich-Ebert-Straße 107
D-68167 Mannheim

**Dr. Andreas Calatzis**
Klinikum der Universität München
Abteilung für Transfusionsmedizin
und Hämostaseologie
Ziemssenstraße 1
D-80336 München

**Prof. Dr. Wulf Dietrich**
Ehemals Abteilung für Anästhsiologie
Deutsches Herzzentrum München
Lazarettstraße 36
D-80636 München

**Prof. Dr. Dr. Klaus Dörner**
Ehem. Städt. Krankenhaus Kiel
Chemnitzstraße 33
D-24116 Kiel

**Prof. Dr. Sabine Eichinger**
Medizinische Universität Wien
Universitätsklinik für Innere Medizin I
Klinische Abteilung für Hämatologie
und Hämostaseologie
Währinger Gürtel 18–20
A-1090 Wien

**Prof. Dr. Meinrad Gawaz**
Universitätsklinikum Tübingen
Innere Medizin III (Kardiologie
und Kreislauferkrankungen)
Otfried-Müller-Straße 10
D-72076 Tübingen

**Ao. Univ.-Prof. Dr. Margarethe Geiger**
Medizinische Universität Wien
Institut für Gefäßbiologie
und Thromboseforschung
Zentrum für Biomolekulare Medizin
und Pharmakologie
Schwarzspanierstraße 17
A-1090 Wien

**Dr. Tobias Geisler**
Universitätsklinikum Tübingen
Innere Medizin III (Kardiologie
und Kreislauferkrankungen)
Otfried-Müller-Straße 10
D-72076 Tübingen

**Prof. Dr. Andreas Greinacher**
Ernst Moritz Arndt Universität Greifswald
Institut für Immunologie
und Transfusionsmedizin
Sauerbruchstraße
D-17475 Greifswald

**Prof. Dr. Sylvia Haas**
Normannenstraße 34a
D-81925 München

**Dr. Christoph Hammerstingl**
Universitätsklinikum Bonn
Medizinische Klinik und Poliklinik II
Sigmund-Freud-Straße 25
D-53105 Bonn

**Prof. Dr. Peter Hellstern**
Klinikum der Stadt Ludwigshafen
Institut für Hämostaseologie
und Transfusionsmedizin
Bremserstraße 79
D-67063 Ludwigshafen

**Dr. Dr. Hans-Jörg Hertfelder**
Universitätsklinikum Bonn
Institut für experimentelle Hämatologie
und Transfusionsmedizin
Sigmund-Freud-Straße 25
D-53105 Bonn

**Prof. Dr. Christian von Heymann**
Charité-Universitätsmedizin Berlin
Campus Virchow-Klinikum/
Campus Charité Mitte
Klinik für Anästhesiologie mit
Schwerpunkt operative Intensivmedizin
Augustenburger Platz 1
D-13353 Berlin

**Univ.-Doz. Dr. Pierre Hopmeier**
Krankenanstalt Rudolfstiftung
Zentrallaboratorium und Blutbank
Juchgasse 25
A-1030 Wien

**Priv.-Doz. Dr. Berend Isermann**
Universität Heidelberg
Innere Medizin I (Endokrinologie,
Nephrologie) und Klinische Chemie
Im Neuenheimer Feld 410
D-69120 Heidelberg

**Prof. Dr. Craig M. Jackson**
5931 Seacrest View Rd
San Diego, CA 92121-4355, USA

**Dr. Csilla Jámbor**
Universität München, Klinikum Großhadern
Klinik für Anästhesiologie
Arbeitsgruppe Perioperative Hämostase
Max-Lebsche-Platz 32
D-81377 München

**Dr. Kerstin Jurk**
Universitätsklinik Münster
Klinik u. Poliklinik für Anästhesiologie
und operative Intensivmedizin
Abteilung für experimentelle
und klinische Hämostaseologie
Mendelstraße 11
D-48149 Münster

**Prof. Dr. Lothar Kanz**
Universitätsklinikum Tübingen
Innere Medizin II
Otfried-Müller-Straße 10
D-72076 Tübingen

**Prof. Dr. Beate Kehrel**
Universitätsklinik Münster
Klinik u. Poliklinik für Anästhesiologie
und operative Intensivmedizin
Abteilung für experimentelle
und klinische Hämostaseologie
Mendelstraße 11
D-48149 Münster

**Prof. Dr. Bettina Kemkes-Matthes**
Universitätsklinikum Gießen
u. Marburg GmbH
Interdisziplinärer Schwerpunkt
Hämostaseologie
Klinikstraße 36
D-35385 Gießen

**Prof. Dr. Volker Kiefel**
Universitätsklinikum Rostock
Transfusionsmedizin
Ernst-Heydemann-Straße 6
D-18057 Rostock

**Prof. Dr. Harald Klüter**
Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Institut für Transfusionsmedizin
und Immunologie
Friedrich-Ebert-Straße 107
D-68167 Mannheim

**Prof. Dr. Hans-Peter Kohler**
Universitätsklinik für Hämatologie
und Hämatologisches Zentrallabor
Hämostase Forschungslabor
Universität Bern/Inselspital
CH-3010 Bern

**Prof. Dr. Stavros Konstantinides**
Universitätsmedizin Göttingen
Abteilung Kardiologie und Pneumologie
Professor and Chairman,
Department of Cardiology
Democritus University of Thrace
University General Hospital
68100 Alexandroupolis, Greece

**Dr. Hans-Georg Kopp**
Universitätsklinikum Tübingen
Innere Medizin II
Otfried-Müller Straße 10
D-72076 Tübingen

**Priv.-Doz. Dr. Jürgen Koscielny**
Charité-Universitätsmedizin Berlin
Institut für Transfusionsmedizin
Charité Platz 1
D-10117 Berlin

**Priv.-Doz. Dr. Andreas Koster**
MediClin Herzzentrum Lahr/Baden
Hohbergweg 2
77933 Lahr

**Priv.-Doz. Dr. Johanna Kremer-Hovinga**
Universitätsklinikum für Hämatologie
und Hämatologisches Zentrallabor
Inselspital Universitätsspital
CH-3010 Bern

**Priv.-Doz. Dr. Karin Kurnik**
Klinikum der Universitätsklinik München
Kinderklinik und Kinderpoliklinik
Dr. von Haunersches Kinderspital
Pädiatrische Hämostaseologie/
Pädiatrisches Hämophiliezentrum
Lindwurmstraße 4
D-80337 München

**Prof. Dr. Paul Kyrle**
Medizinische Universität Wien
Universitätsklinik für Innere Medizin I
Klinische Abteilung für Hämatologie
und Hämostaseologie
Währinger Gürtel 18–20
A-1090 Wien

**Prof. Dr. Bernhard Lämmle**
Universitätsklinikum für Hämatologie
und Hämatologisches Zentrallabor
Inselspital Universitätsspital
CH-3010 Bern

**Prof. Dr. Florian Lang**
Universität Tübingen
Physiologie I
Gmelin Straße 5
D-72076 Tübingen

**Dr. Harald F. Langer**
Universitätsklinikum Tübingen
Medizinische Klinik III (Kardiologie
und Kreislauferkrankungen)
Otfried-Müller-Straße 10
D-72076 Tübingen

**Priv.-Doz. Dr. Eva Lengfelder**
Universitätsmedizin Mannheim
Medizinische Fakultät Mannheim
der Universität Heidelberg
III. Medizinische Klinik
Theodor-Kutzer-Ufer 1–3
D-68167 Mannheim

**Priv.-Doz. Dr. Stephan Lindemann**
St. Petri Hospital
Medizinische Klinik II (Kardiologie
u. Kreislauferkrankungen)
Hüffertstraße 50
D-34414 Warburg

**Prof. Dr. Edelgard Lindhoff-Last**
Universitätsklinik Frankfurt am Main
Angiologie und Hämostaseologie
Zentrum der Inneren Medizin III
Theodor-Stern-Kai 7
D-60590 Frankfurt/Main

**Priv.-Doz. Dr. Wolfgang Lösche**
Universitätsklinikum Jena
Klinik für Anästhesiologie
und Intensivtherapie
Arbeitsgruppe experimentelle Anästhesie
Erlanger Allee 101
D-07747 Jena

**Priv.-Doz. Dr. Norbert Lubenow**
Akademiska Sjukhuset/University Hospital
Klinisk Immunologi och
Transfusionsmedicin
75185 Uppsala, Sweden

**Prof. Dr. Thomas F. Lüscher**
Universitätsspital Zürich
Klinik für Kardiologie
Rämistrasse 100
CH-8091 Zürich

**Dr. Katharina Madlener**
Kerckhoff-Klinik
Hämostaseologie und Transfusionsmedizin
Benekestraße 2–8
D-61231 Bad Nauheim

**Univ.-Prof. Dr. Christine Mannhalter**
Klinisches Institut für Medizinische
und Chemische Labordiagnostik
Medizinische Universität Wien
Währinger Gürtel 18–20
A- 1090-Wien

**Prof. Dr. Gernot Marx**
Universitätsklinikum Aachen
Klinik für operative Intensivmedizin
Pauwelsstraße 30
D-52074 Aachen

**Prof. Dr. Andreas May**
Universitätsklinikum Tübingen
Innere Medizin III (Kardiologie
und Kreislauferkrankungen)
Otfried-Müller-Straße 10
D-72076 Tübingen

**Prof. Dr. Robert Möhle**
Universitätsklinikum Tübingen
Medizinische Klinik II
Otfried-Müller-Straße10
D-72076 Tübingen

**Prof. Dr. em. Eberhard Morgenstern**
Petersberger Hof 4
D-66119 Saarbrücken

**Dr. Jens Müller**
Universitätsklinik Bonn
Institut für Experimentelle Hämatologie
und Transfusionsmedizin
Sigmund-Freud-Straße 25
D-53127 Bonn

**Prof. Dr. em. Gert Müller-Berghaus**
Im Hafergarten 5
D-61239 Ober-Mörlen

**Prof. Dr. Ulf Müller-Ladner**
Innere Medizin mit Schwerpunkt
Rheumatologie
Justus-Liebig Universität Giessen
Abt. für Rheumatologie
und Klinische Immunologie
Kerckhoff-Klinik
Benekestraße 2–8
D-61231 Bad Nauheim

**Prof. Dr. Peter P. Nawroth**
Universität Heidelberg
Innere Medizin I (Endokrinologie,
Nephrologie) und Klinische Chemie
Im Neuenheimer Feld 410
D-69120 Heidelberg

**Priv.-Doz. Dr. Thomas Neuhaus**
St. Vincenz-Krankenhaus
Abt. für Hämatologie
und Internistische Onkologie
Auf dem Schafsberg
D-65549 Limburg

**Prof. Dr. Goetz Nowak**
Universitätsklinikum Jena
Arbeitsgruppe Pharmakologische
Hämostaseologie
Drackendorferstraße 1
D-07747 Jena

**Prof. Dr. Ulrike Nowak-Göttl**
Universitätskinderklinik
Pädiatrische Hämatologie und Onkologie
Albert-Schweitzer-Straße 33
D-48149 Münster

**Dr. Volker Oberle**
Universitätsklinikum Jena
Institut für Transfusionsmedizin
Erlanger Allee 101
D-07747 Jena

**Prof. Dr. Stefan Offermanns**
Max-Planck-Institut für Herz-
und Lungenforschung
Pharmakologie
Ludwigstraße 43
D-61231 Bad Nauheim

**Prof. Dr. Johannes Oldenburg**
Universitätsklinikum Bonn
Institut für experimentelle Hämatologie
und Transfusionsmedizin
Sigmund-Freud-Straße 25
D-53105 Bonn

**Prof. Dr. Heyder Omran**
St. Marienhospital Bonn
Innere Medizin/Kardiologie
Robert-Koch-Straße 1
D-53115 Bonn

**Prof. Dr. Ilka Ott**
1. Medizinische Klinik der
Technischen Universität München
Ismaninger Straße 22
D-81675 München

**Prof. Dr. Ingrid Pabinger**
Medizinische Universität Wien
Universitätsklinik für Innere Medizin I
Klinische Abteilung für Hämatologie
und Hämostaseologie
Währinger Gürtel 18–20
A-1090 Wien

**Dr. Anna Perchuc**
Schweizerisches Tropeninstitut
MPI
Socinstrasse 57
CH-4002 Basel

**Prof. Dr. Bernd Pötzsch**
Universitätsklinikum Bonn
Institut für experimentelle Hämatologie
und Transfusionsmedizin
Sigmund-Freud-Straße 25
D-53105 Bonn

**Dr. Gerald W. Prager**
Medizinische Universität Wien
Universitätsklinik für Innere Medizin I
Währinger Gürtel 18–20
A-1090 Wien

**Prof. Dr. Klaus T. Preissner**
Justus-Liebig-Universität Gießen
Fachbereich Medizin/
Biochemisches Institut
Friedrichstraße 24
D-35392 Gießen

**Ao. Univ.-Prof. Dr. Peter Quehenberger**
Medizinische Universität Wien
Klinisches Institut für Medizinische
und Chemische Labordiagnostik
Währinger Gürtel 18–20
A-1090 Wien

**Prof. Dr. Eberhard Rabe**
Universitätshautklinik und Poliklinik Bonn
Dermatologische Angiologie
und Phlebologie
Sigmund-Freud-Straße 25
D-53105 Bonn

**Univ.-Prof. Dr. Werner Rath**
Professor für Gynäkologie
und Geburtshilfe
Medizinische Fakultät der RWTH
Wendlingweg 2
D-52074 Aachen

**Prof. Dr. Konrad Reinhart**
Universitätsklinikum Jena
Klinik für Anästhesiologie
und Intensivtherapie
Erlanger Allee 101
D-07747 Jena

**Prof. Dr. Armin J. Reininger**
Klinikum der Universität München
Abt. Transfusionsmedizin/Hämostaseologie
Max-Lebsche-Platz 32
D-81377 München

**Prof. Dr. Thomas Renné**
Division of Clinical Chemistry
Department of Molecular Medicine
and Surgery
Karolinska University Hospital
SE17176 Stockholm, Sweden

**Priv.-Doz. Dr. Friedrich-Christian Rieß**
Albertinen Krankenhaus
Herzchirurgie
Süntelstraße 11a
D-22457 Hamburg

**Prof. Dr. Dirk Sander**
Neurologische Klinik Medical Park
Thanngasse 15
D-83483 Bischofswiesen

**Dr. Katrin Scherer**
Universitätsspital Basel
Allergologie/Dermatologie
Petersgraben 4
CH-4031 Basel

**Dr. Marc Schindewolf**
Universitätsklinik Frankfurt am Main
Angiologie und Hämostaseologie
Zentrum der Inneren Medizin III
Theodor-Stern-Kai 7
D-60590 Frankfurt/Main

**Prof. Dr. Reinhard Schneppenheim**
Universitätsklinikum Eppendorf
Zentrum für Geburtshilfe, Kinder-
u. Jungendmedizin
Pädiatrische Hämatologie u. Onkologie
Martinistraße 52
D-20246 Hamburg

**Dr. Werner Schößler**
Rathenaustraße 12
D-16341 Panketal

**Dr. Verena Schröder**
Universitätsklinik für Hämatologie
und Hämatologisches Zentrallabor
Hämostase Forschungslabor
Universität Bern/Inselspital
CH-3010 Bern

**Prof. Dr. Karsten Schrör**
Universitätsklinikum Düsseldorf
Heinrich-Heine-Universität
Institutes für Pharmakologie
und Klinische Pharmakologie
Universitätsstraße 1, Geb. 22.21
D-40225 Düsseldorf

**Priv.-Doz. Dr. Meike Schwarz**
Medizinisches Versorgungszentrum
Dres. Raulin und Kollegen
Kaiserstraße 104
D-76133 Karlsruhe

**Dr. Holger Seidel**
Universitätsklinikum Bonn
Institut für Experimentelle Hämatologie
und Transfusionsmedizin
Sigmund-Freud-Straße 25
D-53109 Bonn

**Dr. Kathleen Selleng**
Ernst Moritz Arndt Universität Greifswald
Institut für Immunologie
und Transfusionsmedizin
Sauerbruchstraße
D-17475 Greifswald

**Dr. Maik Soßdorf**
Universitätsklinikum Jena
Klinik für Anästhesiologie
und Intensivtherapie
Arbeitsgruppe experimentelle Anästhesie
Erlanger Allee 101
D-07747 Jena

**Prof. Dr. Michael Spannagl**
Klinikum der Universität München
Bereich Hämostaseologie Campus
Innenstadt
Ziemssenstraße 1
D-80336 München

**Dr. Jan Steffel**
Universitätsspital Zürich
Klinik für Kardiologie
Rämistrasse 100
CH-8091 Zürich

**Dr. Birgit A. Steppich**
1. Medizinische Klinik der Technischen
Universität München
Ismaninger Straße 22
D-81675 München

**Dr. Jan Stock**
Universitätsklinikum Tübingen
Medizinische Klinik IV
Otfried-Müller-Straße 10
D-72076 Tübingen

**Prof. Dr. Erwin Stolz**
Universitätsklinikum Gießen
und Marburg GmbH
Neurologische Klinik
Am Steg 14
D-35385 Gießen

**Prof. Dr. Dimitros A. Tsakiris**
Universitätsspital Basel
Abt. Diagnostische Hämatologie
Petersgraben 4
CH-4031 Basel

**Priv.-Doz. Dr. Alex Veldman**
Newborn Services
Monash Medical Center
246 Clayton Rd
Clayton 3168 Melbourne, VIC
Australia

**Dr. Ilya Vinnikov**
Medizinische Klinik I
Deutsches Krebsforschungszentrum
Molekularbiologie der Zelle I
A020
Im Neuenheimer Feld 280
D-69120 Heidelberg

**Dr. Matthias Watzka**
Universitätsklinik Bonn
Institut für Experimentelle Hämatologie
und Transfusionsmedizin
Sigmund-Freud-Straße 25
D-53127 Bonn

**Prof. Dr. Christian Weber**
Universitätsklinikum Aachen
Institut für molekulare Herz-
Kreislaufforschung
Pauwelsstraße 30
D-52074 Aachen

**Dr. Christian Weber**
Universitätsklinik Frankfurt am Main
Klinik für Anästhesiologie,
Intensivmedizin und Schmerztherapie
Theodor-Stern-Kai 7
D-60590 Frankfurt/Main

**Priv.-Doz. Dr. Thomas Wieder**
Universitätsklinikum Tübingen
Universitäts-Hautklinik
Liebermeisterstraße 25
D-72076 Tübingen

**Dr. Marianne Wilmer**
Global Program Manager Coagulation
Roche Diagnostics AG
Forrenstrasse
CH-6343 Rotkreuz

**Ao. Univ.-Prof. Dr. Johann Wojta**
Medizinische Universität Wien
Universitätsklinik für Innere Medizin II
Währinger Gürtel 18–20
A-1090 Wien

**Prof. Dr. Barbara Zieger**
Universitätsklinikum Freiburg
Zentrum für Kinderheilkunde
und Jugendmedizin
Mathildenstraße 1
D-79106 Freiburg

**Dr. Dimitrios Zgouras**
Diagnose-Therapie-Zentrum Nordenstadt
Hessenring 46
D-65205 Wiesbaden

**Priv.-Doz. Dr. Rainer Zotz**
Praxis für Hämostaseologie
und Transfusionsmedizin
Immermannstraße 65 a
D-40210 Düsseldorf

# Das Konzept »Hämostaseologie« – Geschichte und Entwicklung

*G. Müller-Berghaus*

Der Begriff »Hämostase« subsumiert alle Reaktionen, die zu einer effektiven Blutstillung beitragen. Das Konzept »Hämostaseologie« umfasst sowohl das Hämostasesystem im engeren Sinne, also die Thrombozyten, das plasmatische Gerinnungssystem und das Fibrinolysesystem, als auch die Gefäßwand und die Blutzirkulation. Eine lokale Blutung mit Durchtrennung von Blutgefäßen wird unter physiologischen Bedingungen durch einen Blutgerinnungspfropf unter Beteiligung der verschiedenen Komponenten des Hämostasesystems verschlossen. Unter pathologischen Bedingungen kann es auch intravasal zur Entstehung von Zellaggregaten sowie fibrinreichen Gerinnseln und damit zur Beeinträchtigung der Fluidität des Blutes und schließlich zu einer Thrombose kommen.

Der Begriff »Hämostaseologie« wurde 1953 von Rudolf Marx (1912–1990) kreiert und sollte die »Lehre vom Stehen und Steckenbleiben des Blutes« umfassen. Die Vorstellungen und Spekulationen von Marx bauten auf grundlegenden Erkenntnissen von Forschern des 19. Jahrhunderts auf: Johannes Müller (1801–1858), Rudolf Virchow (1821–1902), Max Schultze (1825–1874), Alexander Schmidt (1831–1894), Giulio Bizzozero (1846–1901) und Paul Morawitz (1879–1936). Der Bonner Anatom und Physiologe Johannes Müller beobachtete 1832, dass der Hauptbestandteil des Blutgerinnsels ein Faserstoff ist, dem er den Namen Fibrin gab. Rudolf Virchow (1845) und auch Alexander Schmidt (1892) nahmen an, es liege im zirkulierenden Blut eine lösliche Vorstufe des Fibrins vor, und nannten diese Fibrinogen. Aufgrund seiner Experimente erkannte 1892 der Dorpater Physiologe Alexander Schmidt, dass Fibrinogen durch ein Ferment in Fibrin überführt wird. Dieses Ferment – heute wird der Begriff Enzym verwendet – bezeichnete Alexander Schmidt als Thrombin und seine Vorstufe im zirkulierenden Blut als Prothrombin.

Der Leipziger Internist Paul Morawitz publizierte 1904 die klassische Theorie, nach der die Überführung von Prothrombin in Thrombin durch Gewebethrombokinase erfolgt und das entstandene Thrombin Fibrinogen zum Gerinnen bringt. Die Gewebethrombokinase sollte aus Leukozyten stammen. Da Gewebethromboplastin (Gewebethrombokinase) eine sehr aktive Substanz ist, die Blut in Sekunden zum Gerinnen bringt, konzipierte 1935 der Chemiker und Arzt Armand Quick (1894–1978) einen Test zur Bestimmung der »Prothrombinkonzentration«. Nachfolgende Untersuchungen zur Aktivierung des Prothrombins, zu denen vor allen Dingen Walter H. Seegers (1910–1996) entscheidende Beiträge lieferte, führten zu der Entdeckung verschiedener plasmatischer Gerinnungsfaktoren, die heute nach Beschluss eines internationalen Expertenkomitees der International Society on Thrombosis and Hemostasis mit römischen Zahlen benannt werden.

Mit dem Blutgerinnungsschema von Morawitz (1904) war die Grundlage zum Verständnis der sogenannten plasmatischen Gerinnung gelegt. Etwa zur gleichen Zeit begann die Erforschung von Zellen, von denen man annahm, sie könnten an der Blutstillung beteiligt sein. Max Schultze beschrieb 1865 als erster Zellen im Blut, die kleiner als Erythrozyten sind und verklumpen können. Aufbauend auf den Befunden von Schultze untersuchte der Pathologe Giulio Bizzozero 1882 diese Blutplättchen vitalmikroskopisch bei Amphibien und beobachtete, wie Blutplättchen an Stellen von Gefäßwandschäden haften bleiben, bevor ein Blutgerinnsel sich bildet. Dies stellt den Anfang der Forschung auf dem Gebiet der thrombozytären Blutgerinnung dar.

Eine weitere Zelle, nämlich die Endothelzelle, hat in den letzten 40 Jahren eine große Bedeutung in der Hämosataseforschung erlangt. Endothelzellen bilden die einschichtige innere Auskleidung aller Blutgefäße, trennen also das zirkulierende Blut von den übrigen Zellen der Gefäßwand und haben aufgrund ihrer Lokalisation im gesamten Organismus mannigfache Funktionen. Wahrscheinlich erkannte bereits Virchow 1847 die Bedeutung des Endothels auch für die Blutgerinnung, da er die Thromboseentstehung als ein entgleistes Zusammenspiel von Blutinhalt, Gefäßwand und Blutströmung beschrieb. Die Aufklärung vielfacher Wechselwirkungen zwischen Blutplättchen, plasmatischem Gerinnungssystem und Fibrinolysesystem sowie der zugehörigen Inhibitoren dieser Komponenten und Reglersysteme gelang im Detail erst, nachdem kultivierte Endothelzellen zur Verfügung standen. Jaffe und Mitarbeiter beschrieben 1973 als erste eine Methode, Endothelzellen zu isolieren, in Kultur am Leben zu erhalten bzw. zu züchten.

Lange Zeit haben auch heute noch lebende Wissenschaftler an dem Konzept festgehalten, die Aktivierung der plasmatischen Gerinnung laufe über 2 Enzymkaskaden ab, nämlich über eine extrinsische und eine intrinsische Gerinnungsaktivierung. Nur aus didaktischen Gründen hat die von MacFarlane (1964) sowie Davie und Ratnoff (1964) konzipierte Gerinnungskaskade noch heute ihre Berechtigung erwähnt zu werden, obwohl wir durch Experimente wissen, dass es unter physiologischen Bedingungen, also intravasal, nur eine durch Gewebethromboplastin initiierte Aktivierung des plasmatischen Gerinnungssystems gibt. Gewebethromboplastin wird heute in der Regel als Tissue Factor bezeichnet.

Wenn noch vor 60 Jahren Hämostase ausschließlich mit dem Phänomen der Blutstillung assoziiert wurde, so lässt sich heute unter dem Begriff »Hämostaseologie« die Lehre der Regulation und Dysregulation des Hämostasesystems subsumieren (Müller-Berghaus u. Pötzsch 1998). Demnach befasst sich die Hämostaseologie sowohl mit der Physiologie und der Pathologie der Blutstillung bzw. der Blutungsneigung als auch mit der Physiologie und Pathologie der Gerinnselbildung bzw. der Thrombose. Damit stellt das Hämostasesystem einen von mehreren zur Homöostase beitragenden Mechanismen unseres Organismus dar. Das

intakte Hämostasesystem garantiert das Strömen des Blutes und bei Gefäßwandschädigung die Reparatur des Defektes. Wenn das Hämostasesystem wie alle geregelten Systeme unseres Organismus einer Dynamik unterworfen ist, so ist die logische Folgerung, dass das Hämostasesystem in vivo reguliert wird. Das Zusammenspiel von dysreguliertem Hämostasesystem, gestörter Blutströmung und Gefäßwanddefekt wurde bereits vor ungefähr 150 Jahren von Virchow (1847) als Ursache einer Thrombose erkannt und wird ihm zu Ehren heute als Virchow-Trias bezeichnet.

Aus der Erkenntnis eines regulierten Zusammenspiels von Blutströmung, Gefäßwandfaktoren und Komponenten des Gerinnungs- und Fibrinolysesystems lässt sich zwanglos folgern, dass Komponenten des Hämostasesystems in vivo, also während des Fließens des Blutes, aktiviert und inhibiert werden müssen, um als reguliertes System bestehen zu können. Alfred L. Copley hat 1953 als erster Produkte einer In-vivo-Aktivierung der Blutgerinnung nachgewiesen und schloss aus seinen experimentellen Befunden auf eine unter physiologischen Bedingungen vorkommende »kontinuierliche Gerinnung«. Hanns-Gotthard Lasch brachte 1959 mit dem Begriff »latente Gerinnung« zum Ausdruck, dass unter physiologischen Bedingungen das Hämostasesystem fortlaufend aktiviert wird.

In den letzten 30 Jahren ist sprunghaft eine Fülle neuer Ergebnisse erarbeitet worden. Unter Anwendung biochemischer und molekularbiologischer Verfahren, immunologischer Techniken unter Verwendung von monoklonalen Antikörpern, mithilfe der Elektronenmikroskopie, der Immunhistologie, der Intravitalmikroskopie, der DNA- und RNA-Analytik und unter Zuhilfenahme von genetisch veränderten Tieren und Zellen konnte die Struktur von Gerinnungsproteinen aufgeklärt, und Domänen – z. B. Signalpeptide, γ-carboxyglutaminsäurereiche Domänen, EGF-Domänen, Kringlestrukturen und katalytische Domänen – konnten dargestellt werden. Die zugehörigen Gene der Hämostasekomponenten sind mittlerweile bekannt. Viele dieser Erkenntnisse haben es möglich gemacht, die Synthese von Gerinnungsfaktoren im Tierexperiment, aber auch in der Zellkultur, zu verfolgen und zu beeinflussen. Mithilfe von monoklonalen Antikörpern (Scheefers-Borchel et al. 1985) und der Aptamertechnik konnten Derivate einer Gerinnungsaktivierung sowie einer Gerinnungsinhibierung im zirkulierenden Blut nachgewiesen werden.

Mit Kenntnis der Syntheseabläufe ist die Pathophysiologie vieler Erkrankungen des Hämostasesystems verständlich geworden. Die Erkrankungen lassen sich nicht symptombezogen, sondern pathophysiologisch korrekt behandeln. Aufgrund dieser Kenntnisse und unter Anwendung der aufgeführten neueren Methoden sind neue therapeutische Prinzipien erarbeitet worden. Die Einführung neuer Therapeutika ist zu erwarten. Beispielsweise hat das Verständnis der Pathophysiologie der Verbrauchskoagulopathie zur therapeutischen Anwendung von Antikoagulanzien (z. B. Heparin, aktiviertes Protein C) zur »Behandlung« der Blutung dieses Syndroms geführt, da die Verabreichung des Antikoagulans die Aktivierung des Hämostasesystems blockiert und damit den Verbrauch von Gerinnungsfaktoren unterbindet, der bei den betroffenen Patienten zu Blutungen führt (Müller-Berghaus et al. 1993, Bernard et al. 2001).

Heute hat sich das Bild der Hämostaseologie gewandelt. Molekularbiologische Methoden haben es möglich gemacht, einzelne oder eine Kombination von mehreren Komponenten des Hämostasesystems auszuschalten und den Effekt solcher Deletionen sowohl auf die embryonale Entwicklung als auch auf den Ablauf des fortschreitenden Lebens zu untersuchen. Dieses Vorgehen führte zu überraschenden Befunden: Das Hämostasesystem ist nicht nur im Sinne eines Epiphänomens, z. B. an Entzündungsreaktionen oder Tumormetastasierung, beteiligt, sondern einzelne Komponenten des Hämostasesystems sind für wichtige Funktionsabläufe des Organismus essenziell, die nicht direkt mit dem Phänomen Blutstillung in Einklang zu bringen sind. So beeinflussen beispielsweise Komponenten des Fibrinolysesystems die embryonale Entwicklung des Gehirns (Takaishi et al. 1997). Überraschend war auch der Befund, dass der CD40-Ligand (CD40L), der Mittler der Immunantwort nach Kontakt von B- und T-Zellen, auch in Thrombozyten enthalten ist (Henn et al. 1998). Wenn Thrombozyten durch Thrombin oder nach Kontakt mit Kollagen aktiviert werden, so setzen sie CD40L frei, das mit dem zugehörigen Rezeptor auf der Oberfläche der Endothelzellen interagiert, die ihrerseits chemotaktische Mediatoren, aber auch den Tissue Factor exprimieren.

Dieser Befund, der die enge Verknüpfung zwischen Hämostasekomponenten und Immunreaktion zeigt, wird weiterhin durch die Beobachtung akzentuiert, dass Antikörper gegen CD40L die Bildung von atherosklerotischen Plaques im Tierexperiment verhindern (Mach et al. 1998). Diese exemplarischen Experimente lassen auf eine Beteiligung von Thrombozytenaktivierung und Immunreaktion an der Atherogenese schließen. Andere Befunde weisen auf die Verknüpfung von Hämostasekomponenten und Angiogenese hin. So wird die Neoangiogenese kardialer mikrovaskulärer Endothelzellen durch eine Interaktion des »platelet derived growth factor« mit seinem Rezeptor induziert (Edelberg et al. 1998).

Interessanterweise sind Hämostasesystem und Entzündungsreaktion über Ligand-Rezeptor-Interaktionen eng miteinander gekoppelt, sodass es aufgrund dieser Befunde Schwierigkeiten bereitet, das Hämostase-, das Komplement- oder das Immunsystem als isolierte, eigenständige Systeme zu betrachten, die unabhängig von einem anderen System reguliert werden. Sicherlich sind die Angiogenese und die Atherosklerose, aber auch die Regulation des Gefäßtonus ohne Einbeziehung des Hämostasesystems nicht

umfassend beschrieben. Es muss der Zukunft überlassen bleiben, die essenziellen Komponenten einzelner Systeme zu erkennen und herauszuarbeiten. Möglicherweise wird das Ergebnis der Aktivitäten unterschiedlicher Forschungsrichtungen ein Konzept bestätigen, nach dem für die biologische Entstehung und Entwicklung des Homo sapiens keine Komponente unentbehrlich ist und nach dem das Zusammenspiel der Komponenten für die Entstehung, aber auch für die Begrenzung des Lebens – und für die Zeit zwischen diesen Eckpfeilern – verantwortlich ist.

## Literatur

Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF et al. (2001) Recombinant human protein C Worldwide Evaluation in Severe Sepsis (PROWESS). Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. N Engl J Med 344: 699–709

Bizzozero J (1882) Über einen neuen Formbestandteil des Blutes und dessen Rolle bei der Thrombose und der Blutgerinnung. Arch Pathol Anat 90: 261–332

Brewer DB (2006) Max Schultze (1865), G. Bizzozero (1882) and the discovery of the platelet. Br J Haematol 133: 251–258

Copley AL (1953) On a physiological role of fibrin and the capillorrhagic effect of fibrinolysis in normal and x-irradiated rabbits. Abstracts 19th Internat Physiol Congr, Montreal, pp 280–281

Davie EW, Ratnoff OD (1964) Waterfall sequence for intrinsic blood clotting. Science 145: 1310–1312

Edelberg JM, Aird WC, Wu W et al. (1998) PDGF mediates cardiac microvascular communication. J Clin Invest 102: 837–843

Henn V, Slupsky JR, Gräfe M et al. (1998) CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells. Nature 1998: 591–594

Jaffe EA, Nachman RL, Becker CG et al. (1973) Culture of human endothelial cells derived from umbilical veins. Identification by morphologic and immunologic criteria. J Clin Invest 52: 2745–2756

Lasch H-G (1959) Untersuchungen zur Dynamik im System der Blutgerinnungsfaktoren (»latente Gerinnung der Blutbahn«). Habilitationsschrift, Ruprecht-Karl-Universität, Heidelberg

MacFarlane RG (1964) An enzyme cascade in the blood clotting mechanism, and its function as a biochemical amplifier. Nature 202: 498–499

Mach F, Schönbeck U, Sukhova GK et al. (1998) Reduction of atherosclerosis in mice by inhibition of CD40 signalling. Nature 394: 200–203

Marx R (1953) Hämostaseologie. Habilitationsschrift, Ludwig-Maximilian-Univeritä t, München

Morawitz P (1903/04) Beiträge zur Kenntnis der Blutgerinnung. Deutsch Arch Klin Med 79: 1–28, 215–233, 432–442

Müller J (1832) Beobachtungen zur Analyse der Lymphe, des Blutes und des Chylus. Poggendorfs Annalen 25: 537

Müller-Berghaus G, Pötzsch B (1998) Hämostaseologie. Molekulare und zelluläre Mechanismen, Pathophysiologie und Klinik. Springer, Berlin Heidelberg New York Tokio

Müller-Berghaus G, Madlener K, Blombäck M et al. (1993) DIC. Pathogenesis, Diagnosis and Therapy of Disseminated Intravascular Fibrin Formation. Excerpta Medica, Amsterdam

Pötzsch B, Müller J, Rox JM (2006) Developmental Strategies of Novel Anticoagulants. Transfus Med Hemother Transfus. Med Hemother 33: 200–204

Quick AJ, Stanley-Brown M, Bancroft FW (1935) A study of the coagulation defect in hemophilia and jaundice. Amer J Med Sci 190: 501–511

Scheefers-Borchel U, Müller-Berghaus G, Fuhge P et al. (1985) Discrimination between fibrin and fibrinogen by a monoclonal antibody against a synthetic peptide. Proc Natl Acad Sci 82: 7091–7095

Schmidt A (1892) Zur Blutlehre. Vogel, Leipzig

Seegers WH (1962) Prothrombin. Harvard University Press, Cambridge (Mass)

Takaishi T, Ueshima S, Matsuo O (1997) New aspects of fibrinolytic proteins in brain development. Cell Struct Funct 22: 225–229

Virchow R (1845) Über den Faserstoff. In: Virchow R: Gesammelte Abhandlungen zur wissenschaftlichen Medizin, 2. unveränd Aufl. Hamm 1862, S 57–145

Virchow R (1847) Zur pathologischen Physiologie des Blutes. Virch Arch 1: 546–583

# Einführung

# 1 Hämostasesystem

*K. Madlener, B. Pötzsch*

## Einleitung

Die Blutgerinnung ermöglicht nach einer Verletzung den primären Wundverschluss und begrenzt dadurch den Blutverlust. Bei intakter Gefäßwand wird eine Gerinnselbildung verhindert und die Fließfähigkeit des Blutes aufrechterhalten. Alle daran beteiligten Reaktionspartner werden dem Hämostasesystem zugerechnet.

Entsprechend den physiologischen Reaktionsabläufen, den beteiligten Reaktionspartnern und den biologischen Endpunkten werden die thrombozytäre und plasmatische Blutstillung, die Regulationsmechanismen der Gerinnungsaktivierung und die Fibrinolyse unterschieden. Diese Reaktionswege des Hämostasesystems sind durch vielfache Wechselwirkungen miteinander verbunden und beeinflussen sich gegenseitig in ihrer Aktivität.

## 1.1 Thrombozytäre Blutstillung

Auslösender Trigger für die Hämostaseaktivierung ist die verletzungsbedingte Ruptur des Gefäßendothels. Dadurch werden Gewebszellen und subendotheliale Matrixproteine freigelegt, die als Reaktionspartner für die im Blut zirkulierenden Thrombozyten und plasmatischen Hämostasefaktoren fungieren.

Der im Blut zirkulierende Von-Willebrand-Faktor (vWF), ein multimeres Adhäsivprotein, bindet an freigelegte Strukturproteine der Gefäßwand wie Kollagenfibrillen. Im Unterschied zu dem im Plasma zirkulierenden vWF verändert der an Kollagen gebundene vWF unter dem Einfluss hoher Scherkräfte seine molekulare Struktur. Dadurch kann eine Bindung von Thrombozyten an den kollagengebundenen vWF erfolgen. Vermittelt wird die Bindung der Thrombozyten an den vWF durch den thrombozytären Glykoprotein-Ib-IX-Komplex, der als primärer vWF-Rezeptor in hoher Konzentration auf der Thrombozytenmembran exprimiert wird (Abb. 1.1).

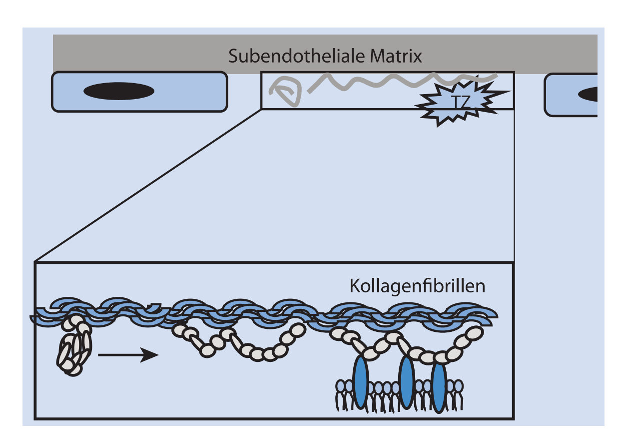



**Abb. 1.1.** Molekulare Mechanismen der Thrombozytenadhäsion. Durch eine Verletzung der Gefäßwand werden subendotheliale Strukturen freigelegt, wie z. B. Kollagenfibrillen, an die Thrombozyten (*TZ*) adhärieren können. Vermittelt wird diese Reaktion durch das Adhäsivprotein Von-Willebrand-Faktor, der im Plasma als globuläres Protein zirkuliert und sich unter hohen Shear-stress-Bedingungen (*Pfeil*) entfaltet. Dadurch werden Bindungsstellen für thrombozytäre Glykoproteine freigelegt

Der Thrombozytenadhäsion folgt die Thrombozytenaktivierung. Dieser aktive Prozess beruht auf einer Kontraktion des thrombozytären Zytoskeletts. Er führt zu einer Änderung der Thrombozytenmorphologie, die als Shape Change bezeichnet wird, zur Freisetzung von thrombozytären Inhaltsstoffen und zu einer Änderung der Membranzusammensetzung mit einer Änderung der Membranpolarisation. Der Shape Change ist im Wesentlichen durch die Ausbildung von filamentösen Pseudopodien gekennzeichnet, über die eine Vernetzung der Thrombozyten untereinander erfolgt. Zu den aus speziellen thrombozytären Organellen während der Thrombozytenaggregation freigesetzten Inhaltsstoffen gehören Gerinnungsfaktoren, vasoaktive Substanzen und thrombozytenaktivierende Substanzen wie ATP. Durch diese freigesetzten Mediatoren werden weitere Thrombozyten aktiviert, sodass die Gerinnselbildung beschleunigt wird. Ein entscheidender Agonist der Thrombozytenaktivierung ist Thrombin, das über die parallel verlaufende plasmatische Gerinnungsaktivierung gebildet wird und über thrombozytäre Thrombinrezeptoren verschiedene Signaltransduktionswege aktiviert.

Die thrombozytäre Blutstillung wird unmittelbar nach der Verletzung eingeleitet und wird deswegen häufig auch als primäre Blutstillung bezeichnet. Dieser Begriff ist jedoch irreführend, da die Aktivierung der plasmatischen Gerinnungskaskade zeitgleich mit der Thrombozytenadhäsion initiiert wird.

## 1.2 Plasmatische Blutstillung

Das plasmatische Gerinnungssystem ist ein selbstamplifizierendes und dynamisch reguliertes Multienzymsystem. Die Verknüpfung der einzelnen Enzymreaktionen erfolgt

**Tab. 1.1.** Plasmatische Gerinnungsfaktoren

| Gerinnungsfaktor | Ursprüngliche Bezeichnung | Syntheseort | Relative Molekularmasse ($M_r$) | Plasmakonzentration | Halbwertszeit |
|---|---|---|---|---|---|
| Faktor I | Fibrinogen | Hepatozyten | 340.000 | 150–450 mg/dl | 3–4 Tage |
| Faktor II | Prothrombin | Hepatozyten | 71.600 | 100 µg/ml | 72 h |
| Faktor V | Proakzelerin | Hepatozyten/ Megakaryozyten | 330.000 | 10 µg/ml | 15 h |
| Faktor VII | Prokonvertin | Hepatozyten | 50.000 | 0,5 µg/ml | 4 h |
| Faktor VIII | Antihämophiler Faktor | Sinusoidale Endothelzellen | 330.000 | 0,1 µg/ml | 8–12 h |
| Faktor IX | Christmas-Faktor | Hepatozyten | 57.000 | 5 µg/ml | 12–24 h |
| Faktor X | Stuart-Prower-Faktor | Hepatozyten | 58.800 | 10 µg/ml | 50 h |
| Faktor XI | Rosenthal-Faktor | Hepatozyten | 143.000 | 5 µg/ml | 60 h |
| Faktor XII | Hageman-Faktor | Hepatozyten | 90.000 | 30 µg/ml | 50 h |
| Faktor XIII | Fibrinstabilisierender Faktor | Hepatozyten | 320.000 | 30 µg/ml | 50 h |
| Hochmolekulares Kininogen | Fitzgerald-Faktor | Hepatozyten | 220.000 | 80 µg/ml | – |
| Präkallikrein | Fletcher-Faktor | Hepatozyten | 88.000 | 30–40 µg/ml | – |
| Tissue Factor | Gewebethromboplastin | Ubiquitär | 45.000 | – | – |
| Von-Willebrand-Faktor | FVIII-assoziiertes Antigen | Endothelzellen/ Megakaryozyten | $660.000–20 \times 10^6$ | 10 µg/ml | 24 h |

über die Gerinnungsfaktoren, die zunächst als inaktive Vorstufe vorliegen. Nach ihrer Aktivierung bilden sie in dem folgenden Enzymkomplex das aktive Enzym. Der Gerinnungsfaktor ist damit Substrat in dem ersten und Enzym in dem folgenden Reaktionsschritt. Eine erste Signalverstärkung wird dadurch erreicht, dass ein gebildetes Enzym bis zu seiner Inaktivierung mehrere Substrate umsetzen kann. Eine weitere Verstärkung wird durch Rückkopplungsmechanismen erzielt.

Alle plasmatischen Gerinnungsfaktoren werden in der Reihenfolge ihrer Entdeckung mit römischen Ziffern benannt. Zur Unterscheidung zwischen der aktiven Form und der noch nicht aktivierten Form wird der Faktorenbezeichnung ein kleines »a« (aktiviert) angehängt. Mit dem Suffix »i« werden inaktivierte Gerinnungsfaktoren bezeichnet. In Tab. 1.1 sind die plasmatischen Gerinnungsfaktoren mit der Angabe des Syntheseorts, der relativen Molekularmasse ($M_r$), der Plasmakonzentration und der Plasmahalbwertszeit aufgelistet.

Aktiviert wird das plasmatische Gerinnungssystem durch das Enzym FVIIa und den Kofaktor Gewebethromboplastin, der auch als Tissue Factor (TF) bezeichnet wird (Abb. 1.2). Faktor VII (FVII) zirkuliert im Unterschied zu den übrigen Gerinnungsfaktoren zu einem geringen Teil von etwa 1% bereits in der aktiven Form. Dieser FVIIa kann an TF binden, der in hoher Konzentration im subendothelialen Gewebe vorkommt, das nach einer Verletzung mit Blut in Kontakt kommt. Auf diese extravasale Lokalisation des TF ist die ursprüngliche Bezeichnung extrinsischer Aktivierungskomplex für den FVIIa-TF-Komplex zurückzuführen. Inzwischen konnte aber auch ein im Blut zirkulierender »intravasaler« TF nachgewiesen werden, der in freier Form und als Bestandteil zellulärer Mikropartikel vorkommt. Dieser TF spielt für die Perpetuierung der Fibrinbildung eine entscheidende Rolle.

Substrat des FVIIa-TF-Komplexes ist Faktor X (FX), der nach seiner Aktivierung die Enzymkomponente des nachfolgenden Prothrombinasekomplexes bildet, dessen Substrat das Prothrombin (FII) ist. Nach proteolytischer Spaltung wird aus dem Prothrombin das aktive Enzym Thrombin (FIIa) freigesetzt. Zu den Thrombinsubstraten gehören neben Fibrinogen die Faktoren XI und XIII, die Kofaktoren V und VIII, Protein C und die Rezeptorfamilie PAR (»proteolysis activatable receptors«). Diese zum Teil gegenläufigen Thrombinwirkungen erfordern eine Regulation der Thrombinwirkung, die durch unterschiedliche Reaktionsgeschwindigkeiten, durch Modulation der Enzymaktivität durch Kofaktoren und durch eine unter-

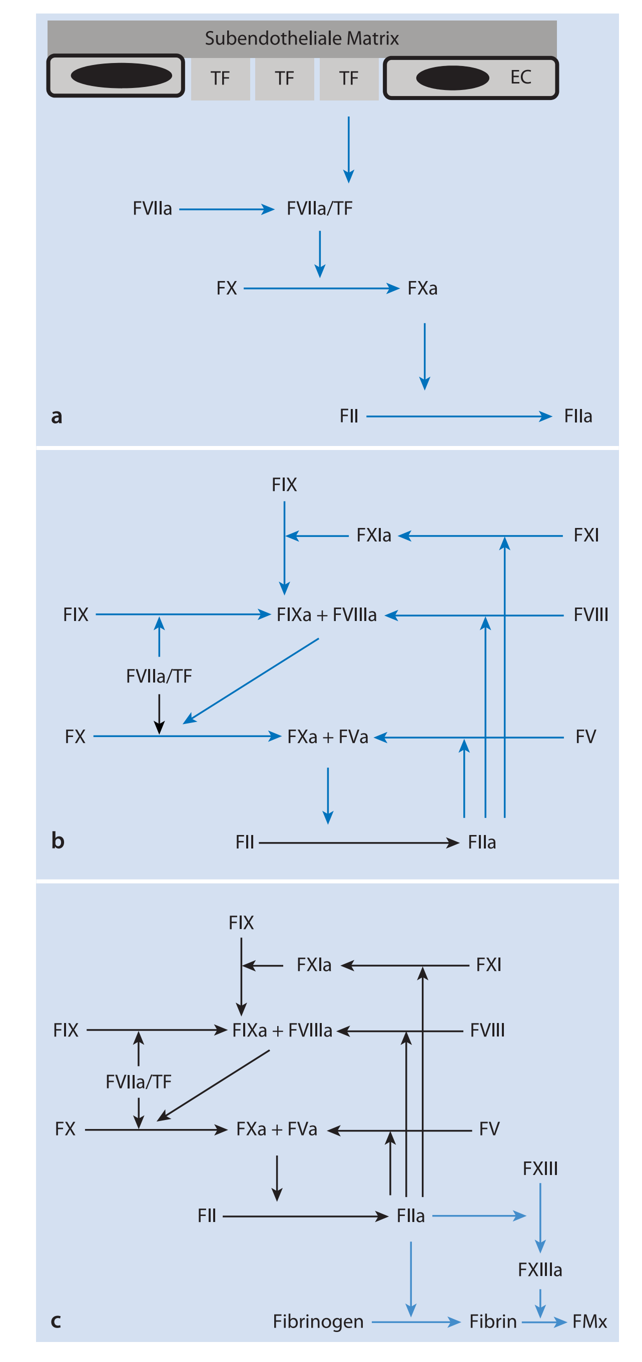



**Abb. 1.2a–c.** Die plasmatische Gerinnungskaskade. **a** Aktivierung des plasmatischen Gerinnungssystems. Im Plasma bereits in aktivierter Form zirkulierender Faktor VII (*FVIIa)* bildet mit Tissue Factor (*TF*) den sogenannten extrinsischen Aktivierungskomplex, der über die Aktivierung von Faktor X (*FX*) die initiale Thrombinbildung einleitet. **b** Verstärkung der initialen Gerinnungsaktivierung. Die mit blauen Pfeilen gekennzeichneten Reaktionswege haben gemein, dass sie durch die initiale Thrombinbildung aktiviert werden und zu einer massiven Verstärkung der Thrombinbildung führen. **c** Fibrinbildung. Ist eine kritische Menge an Thrombin erreicht, wird die Fibrinpolymerisation und anschließende Quervernetzung der Fibrinfibrillen durch aktivierten Faktor XIII (*FXIIIa*) eingeleitet (*blaue Pfeile*). *EC* Endothelzellen; *F* Faktor; a aktivierter Faktor; *FMx* quervernetztes Fibrin

schiedliche räumliche Verteilung der Thrombinsubstrate realisiert wird.

Thrombin ist der zentrale Verstärker der initialen Gerinnungsaktivierung, weil es die Kofaktoren V und VIII sowie den Faktor XI aktiviert. Aktivierter FV (FVa) ist geschwindigkeitsbestimmender Kofaktor im Prothrombinasekomplex. Dementsprechend führt eine Erhöhung der FVa-Konzentration unmittelbar zu einer Verstärkung der Thrombinbildung. Aktivierter FVIII (FVIIIa) ist geschwindigkeitsbestimmender Kofaktor für den Faktor IXa und bildet mit diesem den Tenasekomplex. Die FIXa-Bildung erfolgt initial durch den FVIIa-TF-Komplex und anschließend durch den thrombinaktivierten FXI. Im Vergleich zu der initialen FXa-Bildung durch den FVIIa-TF-Komplex beschleunigt die Bildung des Tenasekomplexes die FXa-Generierung um mehrere Zehnerpotenzen. Die Bedeutung dieser Amplifikationsmechanismen für die plasmatische Gerinnungsreaktion wird durch die Blutungsneigung von Patienten mit einem FVIII- oder FIX-Mangel verdeutlicht.

Mit steigender Thrombinkonzentration kommt es zu einem zunehmenden Umsatz des Thrombinsubstrats Fibrinogen. Thrombin spaltet aus dem Fibrinogenmolekül die Fibrinopeptide A und B ab. Die dadurch ausgelöste intramolekulare Strukturänderung ermöglicht die Polymerisation der »aktivierten« Fibrinogenmoleküle zu Fibrinmonomeren. Durch den ebenfalls durch Thrombin aktivierten FXIII werden diese Fibrinmonomere durch Ausbildung von kovalenten Bindungen untereinander quervernetzt. Dabei katalysiert FXIIIa nicht nur die Bildung von kovalenten Bindungen zwischen den Fibrinmolekülen, sondern auch zwischen Fibrinmolekülen und extrazellulären Proteinen und Strukturproteinen der Thrombozytenmembran. Auf diese Weise entsteht ein Fibrinnetz, das die aggregierten Thrombozyten stabilisiert und zusammen mit diesen ein biomechanisch stabiles Gerinnsel bildet.

Zur Bildung der Multienzymkomplexe müssen die Reaktionspartner in räumliche Nähe gebracht werden. Dies erfolgt durch Bindung der Enzyme, Kofaktoren und Substrate an die Oberfläche von negativ geladenen Phospholipidmembranen, wie sie aktivierte Thrombozyten und verletzte Zellen aufweisen. Dies ist ein Mechanismus, der die Gerinnungsaktivierung auf das verletzte Gefäßareal begrenzt.

## 1.3 Dynamische Regulation der Gerinnungsaktivierung

Die plasmatische und thrombozytäre Gerinnungsaktivierung wird durch verschiedene Mechanismen reguliert. Dazu zählen der »tissue-factor-pathway-inhibitor«-Mechanismus (TFPI-Mechanismus), das Antithrombin-Heparin-System, das Protein-C-System und das Prostazyklin-Thromboxan-System.

Der TFPI reguliert die Thrombinbildung in einem sehr frühen Stadium, in dem er den FVIIa-TF-Komplex blockiert. Zunächst ist hierzu die Bindung von TFPI an FXa erforderlich. Nachfolgend bindet der FXa-TFPI-Komplex an FVIIa-TF.

Das Antithrombin-Heparin-System reguliert die Aktivität des Tenase- und Prothrombinasekomplexes. Antithrombin gehört zur Gruppe der Serinproteaseinhibitoren (Serpine) und inaktiviert die Faktoren Xa und IIa, in dem es deren aktives Zentrum durch kovalente Bindung blockiert. Die Interaktion zwischen Antithrombin und den Enzymsubstraten setzt eine bestimmte Konformation beider Reaktionspartner voraus, deren Entstehung durch endogene oder exogene Heparine begünstigt wird. Darauf beruht die antikoagulatorische Wirkung von Heparinen.

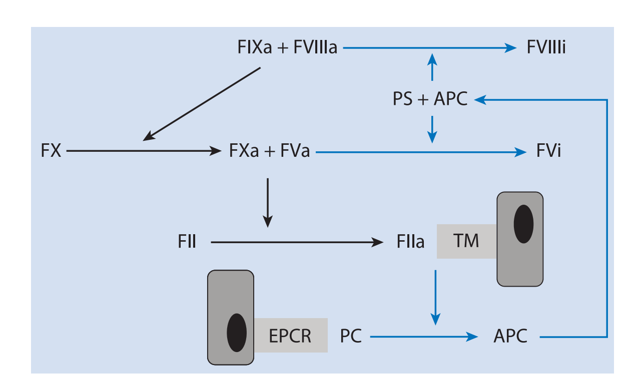
Das Protein-C-System (PC-System) reguliert die Aktivität des Tenase- und Prothrombinasekomplexes durch Inaktivierung der Kofaktoren VIIIa und Va (◘ Abb. 1.3). Aktiviert wird das PC-System an der Oberfläche von Endothelzellen durch Bindung von Thrombin an Thrombomodulin (TM). Dieser Komplex aktiviert Protein C (PC) zum aktivierten PC (APC). Zusammen mit dem Kofaktor Protein S inaktiviert APC die Kofaktoren Va und VIIIa. Dadurch wird die weitere Thrombinbildung in einem negativen Rückkopplungsmechanismus gehemmt, in dem Thrombin gleichzeitig Ziel- und Stellgröße ist. Neben dieser antikoagulatorischen Aktivität ist APC auch antiapoptotisch und antiinflammatorisch wirksam.

Thrombin ist ein potenter Thrombozytenaktivator. Deswegen wird über die Regulation der Thrombinbildung auch indirekt die Thrombozytenaktivierung kontrolliert. Ein thrombozytenspezifischer Regulationsmechanismus existiert für die Thrombozytenagonisten ATP und ADP, die durch endothelzellständige Adeninnukleotidasen abgebaut werden. Darüber hinaus synthetisieren Endothelzellen mit Prostazyklin einen potenten Thrombozytenfunktionshemmer. Prostazyklin ist ein direkter Gegenspieler zu dem von Thrombozyten synthetisierten Thromboxan. Vergleichbar mit der Regulation der plasmatischen Gerinnungskaskade wird durch diese endothelassoziierten thrombozytenfunktionshemmenden Mechanismen die Thrombozytenaktivierung auf den verletzten Gefäßbereich begrenzt.

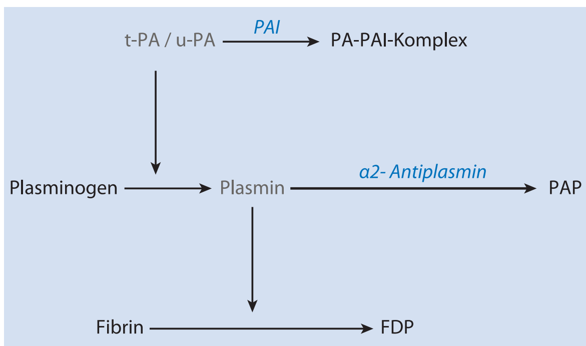
## 1.4 Fibrinolyse

Der biologische Endpunkt der Fibrinolyse ist der proteolytische Abbau des gebildeten Fibrins. In der biologischen Wirkung kann eine intravasale von einer extravasalen Fibrinolyse unterschieden werden. Die intravasale Fibrinolyse ist ein weiterer Regulationsmechanismus, über den die Fibrinbildung auf den verletzten Gefäßbereich begrenzt wird und der einem kompletten Verschluss des Gefäßlumens entgegenwirkt. Die extravasale Fibrinolyse katalysiert Umbauvorgänge der extrazellulären Matrix, die in der Zellproliferation und der Zellmigration eine Rolle spielen. Sie ist nicht unmittelbar an eine vorherige Aktivierung des Gerinnungssystems gekoppelt.

In seiner Organisationsstruktur ist das fibrinolytische System dem plasmatischen Gerinnungssystem vergleichbar. Zentrales Enzym ist Plasmin, das im Blut als inaktives Proenzym Plasminogen zirkuliert. Die Aktivierung von Plasminogen zu Plasmin erfolgt durch die Plasminogenaktivatoren (PA) u-PA (»urokinase-type« PA) und t-PA (»tissue-type« PA) (◘ Abb. 1.4). U-PA und t-PA sind Serinproteasen, die von Endothelzellen und anderen Zellen synthetisiert und




**◘ Abb. 1.3.** Das Protein-C-System. Auf der Oberfläche von Endothelzellen wird Protein C durch den Thrombin-Thrombomodulin-Komplex proteolytisch aktiviert. Das aktivierte Protein C bildet zusammen mit dem Kofaktor Protein S einen katalytischen Komplex, der die Thrombinbildung durch Inaktivierung der geschwindigkeitsbestimmenden Kofaktoren V und VIII reguliert (*blaue Pfeile*). *APC* aktiviertes Protein C; *EPCR* endothelialer-Protein-C-Rezeptor; *TM* Thrombomodulin; *PC* Protein C; *PS* Protein S




**◘ Abb. 1.4.** Das Fibrinolysesystem. Die Plasminogenaktivatoren t-PA und u-PA katalysieren die Bildung von aktivem Plasmin, das quervernetztes Fibrin proteolytisch abbauen kann. Reguliert wird die Fibrinolyseaktivität durch spezifische Inhibitoren auf der Ebene der Plasminogenaktivatoren und des Plasmins. *Grau* aktive Enzyme; *Blau* Inhibitoren; *t-PA* »tissue-type plasminogen activator«; *u-PA* »urokinase-type plasminogen activator«; *PAI* Plasminogenaktivatorinhibitor; *PAP* Plasmin-$\alpha_2$-Plasmininhibitor-Komplex; *FDP* Fibrindegradationsprodukte

reguliert freigesetzt werden. In der t-PA-katalysierten Plasminogenaktivierung wirkt Fibrin als geschwindigkeitsbestimmender Kofaktor. Dies erklärt die hohe Fibrinspezifität von t-PA und lässt vermuten, dass t-PA eine dominante Rolle in der Aktivierung der intravasalen Fibrinolyse spielt. Die nicht durch einen Kofaktor regulierte u-PA-abhängige Plasminogenaktivierung ist dagegen für die extravasale Fibrinolyse entscheidend. Die Fibrinolyseaktivität wird durch verschiedene Mechanismen reguliert. $\alpha_2$-Antiplasmin ist ein direkter Plasmininhibitor, der die Enzymaktivität von Plasmin durch kovalente Komplexbildung irreversibel blockiert. Damit ist es in seinem Wirkmechanismus dem Antithrombin vergleichbar. Die Plasminbildung selbst wird durch die Plasminogenaktivatorinhibitoren (PAI) reguliert.

Durch den »thrombin activated fibrinolysis inhibitor« (TAFI) wird die Fibrinolyseaktivität in Abhängigkeit von der Thrombinkonzentration reguliert. TAFI ist eine Carboxypeptidase, die terminale Lysinreste aus dem Fibrinmolekül abspaltet und dadurch dessen Kofaktorfunktion in der t-PA-vermittelten Plasmingenerierung reduziert.

## Literatur

Monroe DM, Hoffman M (2006) What does it take to make the perfect clot? Arterioscler Thromb Vasc Biol 26: 41–48

Mann KG, Brummel-Ziedins K, Orfeo T et al. (2006) Models of blood coagulation. Blood Cells Mol Dis 36: 108–117

Esmon CT (2006) Inflammation and the activated protein C anticoagulant pathway. Semin Thromb Hemost 32: 49–60

# Zelluläre Hämostase

# 2 Thrombozytenmorphologie

*E. Morgenstern*

## Einleitung

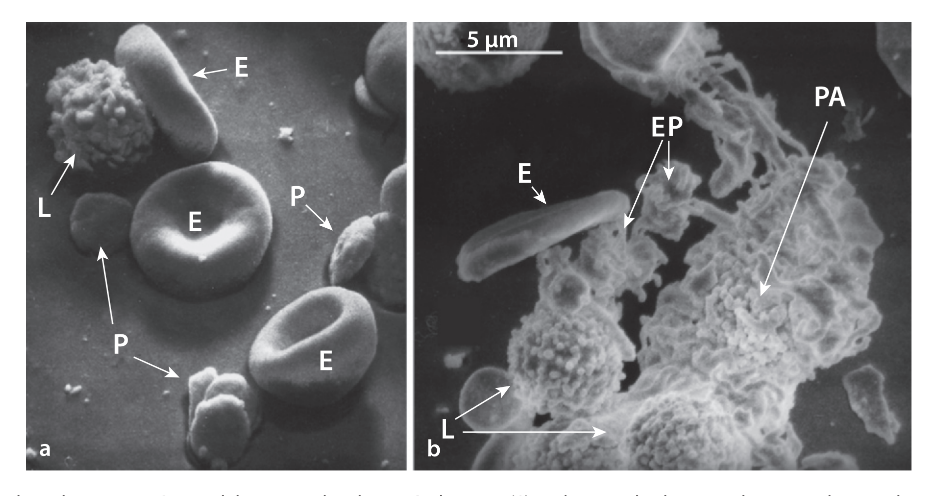
Die kernlosen Thrombozyten als kleinste zelluläre Elemente des Blutes werden im internationalen Schrifttum als Blutplättchen bezeichnet. Ihre Entstehung aus polyploiden Megakaryozyten des Knochenmarkes ist ein im menschlichen Körper einzigartiger Vorgang (► Kap. 3). Ihre Funktionen bei der Blutstillung, der Gefäßreparatur und der Entzündung bedingen morphologische Veränderungen wie bei keiner anderen Körperzelle. Bei pathologischen Abläufen wie der Thrombose und der Arteriosklerose spielen die Reaktionen der Thrombozyten ebenfalls eine entscheidende Rolle.

Kenntnisse über die morphologischen Charakteristika der Thrombozyten in der Zirkulation, bei Reaktionen auf verschiedene Reize, veränderte Gefäßoberflächen oder körperfremde Oberflächen sind für die Erklärung der molekularbiologischen und pathologischen Phänomene bei Hämostase und Thrombose von großem Nutzen. Die in diesem Kapitel dargestellte funktionelle Morphologie der Thrombozyten basiert hauptsächlich auf Daten aus der Ultrastrukturforschung. Große Bedeutung für die strukturelle Analyse besitzen heute aber auch andere Methoden wie »atomic force microscopy«, »confocal laser microscopy«, »4pi imaging« und Durchflusszytometrie.

## 2.1 Gestalt und Beschaffenheit der Thrombozyten

Unstimulierte Thrombozyten zirkulieren in ihrer diskoiden Ruheform (■ Abb. 2.1–2.3). Die mittlere Größe dieser Diskozyten wird mit 3,1 $\mu m^2$, bei einer Dicke von 1 µm angegeben, ihr Volumen mit 4–7,6 $\mu m^3$ (Frojmovic u. Milton 1982), ihr Gewicht mit etwa 10 pg (Iyengar et al. 1979). Nach Blutentnahme findet man mehr als 90% Diskozyten ohne Pseudopodien (■ Abb. 2.1). Wenn die Thrombozyten durch schonendes Zentrifugieren von anderen Blutzellen im plättchenreichen (antikoagulanzhaltigen) Plasma (PRP) isoliert werden oder wenn das Blutplasma durch Waschen der Thrombozyten durch balancierte und gepufferte Salzlösungen ersetzt wird, bleibt die Diskusform erhalten (Patscheke 1981).

Sobald zirkulierende Thrombozyten auf einen Endotheldefekt stoßen, werden sie durch subendotheliale Strukturen oder lösliche Agonisten aus Endothel- und Bindegewebszellen aktiviert und reagieren sehr schnell (► Kap. 6). Thrombozyten adhärieren am multimeren Von-Willebrand-Faktor-Molekül, an Kollagenfasern oder an oberflächengebundenem Fibrinogen (Nossel et al. 1968; Holmsen et al. 1969; Ruggeri et al. 2006; Maxwell et al. 2007; ► Kap. 2.2.2). An den Oberflächen bilden adhärente Thrombozyten Ausbreitungsformen und bedecken z. B. den Endo-




■ **Abb. 2.1a,b.** Thrombozyten im Rasterelektronenmikroskop. **a** Diskozyten (*P*) und im Vergleich ein Erythrozyt und ein Leukozyt, **b** aktivierte Thrombozyten: »Echinosphärozyten« (*EP*) und ein Thrombozytenaggregat (*PA*) nach ADP-Stimulation. *E* Erythrozyt; *L* Leukozyten. (Aufnahme P. Mestres, Anatomie und Zellbiologie, Medizinische Fakultät der Universität des Saarlandes)

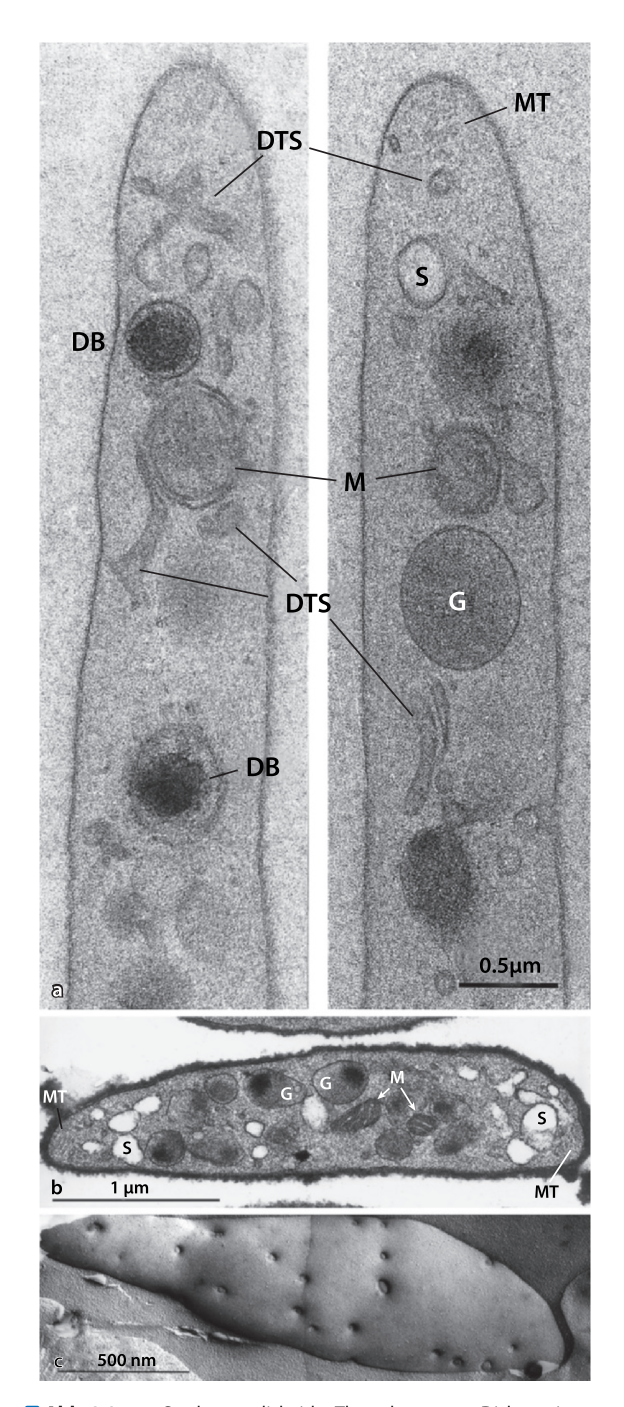



**Abb. 2.2a–c.** Strukturen diskoider Thrombozyten. **a** Diskozyt im Ultradünnschnitt (Transmissionselektronenmikroskop, TEM) nach Kryopräparation. Angeschnitten sind das marginale Bündel der Mikrotubuli, »surface connected system« und α-Granula, die separiert voneinander im Zytoplasma liegen und wie die Mitochondrien und Serotoningranula vom »dense tubular system« umgeben sind (Abb. 2.8), **b** glutaraldehydfixierte Zelle, die mit Alcianblau behandelt wurde, um die Glykokalix an der Oberfläche sichtbar zu machen, **c** Nach Gefrierätzung zeigt die Oberfläche eines Diskozyten die Öffnungen des »surface connected system«. *MT* Mikrotubuli; *S* »surface connected system«; *G* α-Granula; *M* Mitochondrien; *DB* Serotoningranula; *DTS* »dense tubular system«; *SCS* »surface connected system«. (Präparation und Aufnahme E. Morgenstern)

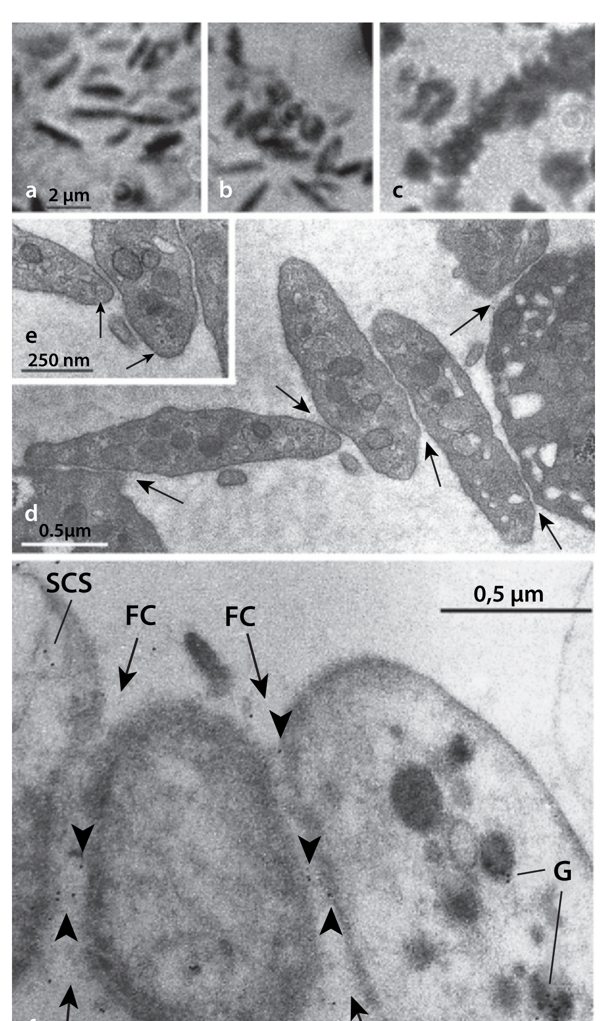



**Abb. 2.3a–f.** In-vitro-Aggregation von Thrombozyten nach ADP-Stimulation. **a** Nicht aktivierte diskoide Thrombozyten, **b** aggregierende Diskozyten 1,5 s nach ADP-Stimulation, **c** Formwandel der Thrombozyten im Aggregat 2,5 s nach ADP-Stimulation, **d** diskoide aggregierende Thrombozyten 1,5 s nach ADP-Stimulation. *Pfeile* charakteristische Kontaktspalten, **e** Vergrößerung der für Diskozyten typischen Anschnitte der Mikrotubulusspirale, **f** diskoide aggregierende Thrombozyten 1,5 s nach ADP-Stimulation, die Markierung mit Antifibrinogen und goldkonjugiertem sekundärem Antikörper zeigt Fibrinogen in den Diskozytenkontaktspalten (*Pfeilspitzen*). *SCS* »surface connected system«; *FC* fokale Kontakte; *G* α-Granula

theldefekt. Durch lösliche Stimulatoren wie Adenosindiphosphat (ADP) oder Thrombin runden sich die Thrombozyten ab und bilden Pseudopodien aus (»Echinosphärozyten« in Abb. 2.1). In Anwesenheit von Fibrinogen aggregieren aktivierte Thrombozyten (Abb. 2.1, 2.3–2.5). Aggregation und Formwandel (Shape-Change) erfolgen nach Stimulation innerhalb von Sekunden (Born u. Richardson 1980; Gear et al.1984; Morgenstern et al. 2007).

Eine Thrombozytenaktierung löst weitere Reaktionen aus: Exozytose (»release reaction«, ▶ Kap. 7) bringt weitere adhäsive Rezeptoren an die Oberfläche und bewirkt durch Agonisten die Aktivierung von Thrombozyten und weißen Blutzellen in der Umgebung. Der aktivierte Stoffwechsel bildet Thromboxan, das mit anderen Thrombozytenagonisten freigesetzt wird (Übersichten bei Siess 1989; Kamath et al. 2001).

## 2.2 Periphere Zone

### 2.2.1 Oberfläche und Plasmamembran der Thrombozyten

Die Plasmamembran des ruhenden Thrombozyten (Ausdehnung in ◘ Tab. 2.1, 2.2) weist eine geordnete Verteilung der Membranphospholipide auf, die durch Stimulation verändert wird (Zwaal u. Hemker 1982). So steigt die Membranfluidität nach Stimulation und der Exozytose gehen »transbilayer«-Bewegungen der Membranlipide voraus (Feijge et al. 1990; Heemskerk et al. 1993; Smeets et al. 1994; Stuart et al. 1995; Williamson et al. 1995). Die Glykokalyx (»surface coat«) ist im Transmissionselektronenmikroskop (TEM) sichtbar, wenn elektronendichte Verbindungen an die membranständigen Proteoplykane und an Kohlenhydratgruppen von membranintegrierten Glykoproteinen binden (Behnke 1968, Abb. 1). Die Proteoglykane der Glykokalyx vermitteln die Bindung von Kollagen und Von-Willebrand-Faktor, oder sie erlauben Interaktionen der Thrombozyten mit Leukozyten.

◘ **Tab. 2.1.** Normalwerte von Membranoberflächen in unstimulierten Thrombozyten (Frojmovic u. Milton 1982)

| | Relative Ausdehnung der Membranoberflächen [%] | Absolute Ausdehnung der Membranoberflächen [$\mu m^2$/Zelle] |
|---|---|---|
| Plasmamembran | 30 | 19 |
| »Surface connected system« | 24 | 14 |
| α-Granula | 24 | 14 |
| »Dense bodies« | 3 | 1 |
| »Dense tubular system« | 19 | 11 |

◘ **Tab. 2.2.** Oberflächenvergrößerung nach dem Formwandel der Thrombozyten (Frojmovic u. Milton 1982)

| | Diskozyt | Echinosphärozyt | Ausbreitungsform |
|---|---|---|---|
| Oberfläche [$\mu m^2$] | 18 | 30–40 | ~70 |

### 2.2.2 Strukturelle Veränderungen der aktivierten Thrombozyten bei Adhäsion und Aggregation

Membranglykoproteine sind Rezeptoren für Liganden, welche die Adhäsion der Thrombozyten an das Subendothel oder an andere Zellen vermitteln (Clemetson u. Clemetson 2001; Clemetson 2002; ▶ Kap. 6). Dazu gehört das Glykoprotein (GP) Ibα, der Rezeptor für Von-Willebrand-Faktor, der bei den in der Zirkulation herrschenden hohen Scherkräften den Beginn der Thrombozytenadhäsion auslöst. Jüngere Untersuchungen mit hochauflösender Differenzial-Interferenzkontrast-Mikroskopie zeigen punktuelle Kontakte zwischen GP Ibα diskoider Thrombozyten und mit Von-Willebrand-Faktor beschichteten Oberflächen. Unter hohen Scherkräften bilden sich lange Plasmamembranausstülpungen (»tether«, ▶ Kap. 8, ◘ Abb. 8.3 und 8.4) und zunächst unstabile Thrombozytenaggregate, die durch »tether« verbunden sind (Dopheide et al. 2002; Reininger et al. 2006; Ruggeri et al. 2006; Maxwell et al. 2007). Diese »tether«-Bildung löst die adhäsive Funktion von GP Ibα/V/IX und dem Fibrinogenrezeptor Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ aus. Als zweiter Schritt erfolgt die Umwandlung der Diskozytenaggregate in stabile Aggregate durch ADP aus den dann aktivierten Thrombozyten. Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ als Rezeptor für Fibrinogen, Fibrin, Fibronektin, Von-Willebrand-Faktor und Vitronektin sichert den festen Kontakt der adhärenten Thrombozyten mit der extrazellulären Matrix oder anderen Oberflächen, auf denen sich die Thrombozyten ausbreiten.

Für die Aggregation der Thrombozyten ist der Rezeptor Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ verantwortlich. Die Zahl der elektronenmikroskopisch und ultrazytochemisch nachweisbaren Rezeptormoleküle an der Oberfläche eines aktivierten Thrombozyten wird auf etwa 70.000 geschätzt. Das stimmt mit Werten aus biochemischen Studien gut überein (Morgenstern 1997; Clemetson 2002). Am ruhenden Thrombozyten scheint dieser Rezeptor Fibrinogen nur in sehr geringer Menge zu binden. Integrin-$\alpha_{IIb}\beta_3$-gebundene Fibrinogenmoleküle vermitteln die Kontakte zwischen aggregierenden Thrombozyten. Wie schon lange vermutet (Lüscher u. Weber 1993), entstehen – z. B. nach ADP-Aktivierung – zunächst Aggregate diskoider Thrombozyten (Maurer-Spurej u. Devine 2001; Morgenstern et al. 2007). Erst nach 2,5 s tritt der Formwandel der Thrombozyten ein (◘ Abb. 2.3, 2.4). Auch in vivo können Thrombozytenaggregate über den ADP-Integrin-$\alpha_{IIb}\beta_3$-Fibrinogen-Mechanismus entstehen (Voss et al. 2006).

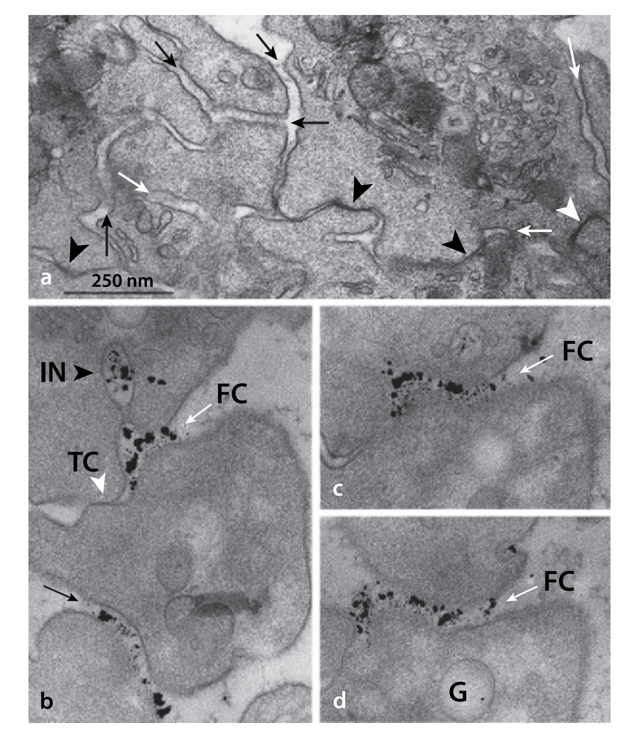



**Abb. 2.4a–d.** Thrombozytenaggregate aus PRP nach ADP-Aktivation. **a** Die Thrombozyten haben nach 2,5 s einen Formwandel durchgeführt und ihre Organellen zentralisiert. Sie sind durch 2 typische Kontakte miteinander verbunden: fibrinogenvermittelte Kontakte (*Pfeile*) und »tight contacts«, die zwischen den Fibrinogenkontakten liegen (*Pfeilspitzen*). **b** Fokale Kontakte (*FC*) zwischen gelfiltrierten Thrombozyten, die in Anwesenheit von 1,4 nm goldmarkierten Fibrinogenmolekülen (Endkonzentration 40 mg/ml Suspension) mit ADP (5 mmol) stimuliert wurden. **c** Nach Kryopräparation wurden Serienschnitte der Aggregate einer Silberverstärkung unterzogen, um die Nanogoldpartikel sichtbar zu machen (). **d** Die Kontaktspalten (FC in b und c) sind mit markierten Fibrinogenmolekülen überbrückt, ein »tight contact« ist mit *TC* indiziert. Fibrinogen-Gold wird internalisiert (*IN*) (Aufnahmen E. Morgenstern, Experiment B. Kehrel, Schnitte und Silberverstärkung N. Böckel)

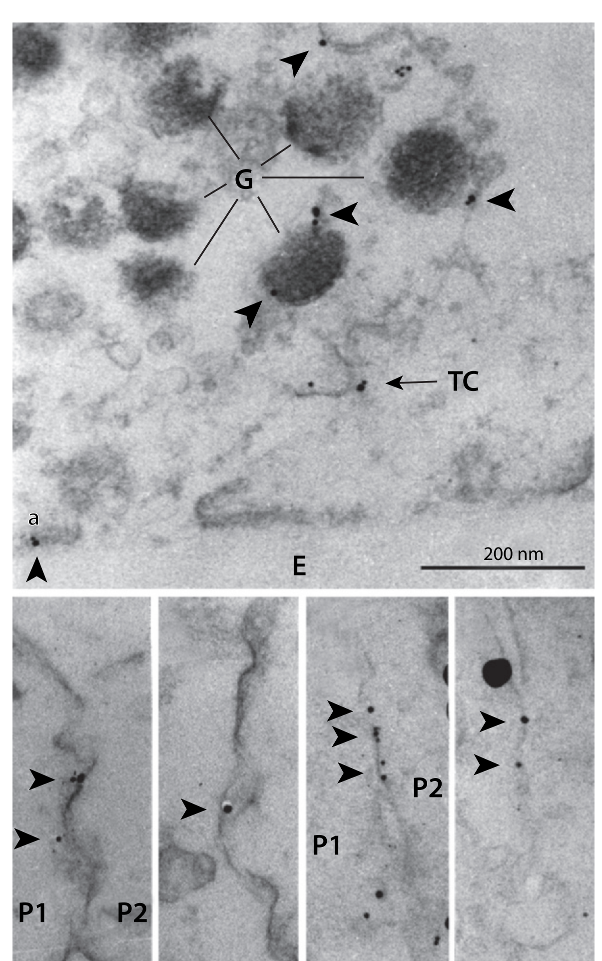



**Abb. 2.5a–e.** Immunmarkierung mit Antiokkludin an vor der Einbettung permeabilisierten Thrombozyten, die sich auf einer Kunstharzoberfläche ausbreiten. (Experiment N. Böckel, Homburg). **a** Okkludin (*Pfeilspitzen*) findet sich an der Plasmamembran, an α-Granulamembranen (*G*) und in einem »tight contact« (*TC*). *E* Eponoberfläche, **b–e** 4 Serienschnitte zeigen Markierungen, vergrößert durch Silberverstärkung, in einem »tight contact« (*TC*) zwischen den Thrombozyten (*P1*, *P2*) (Aufnahmen N. Böckel u. E. Morgenstern)

Die aktivierten Thrombozyten in Aggregaten weisen fokale Kontakte mit einer konstanten Spaltbreite von 40–50 nm auf (Abb. 2.3, 2.4). Sie entspricht der Länge der Fibrinogenmoleküle. Die fokalen Kontakte der aggregierten Thrombozyten nach Formwandel weisen daneben typische enge Membrankontakte auf (»tight contacts« in Abb. 2.3), die den »tight junctions« zwischen anderen Zellen vergleichbar sind (Skaer et al. 1979; Morgenstern et al. 1985). Immunzytochemisch lassen sich in den »tight contacts« junktionale Proteine wie Okkludin und ZO-1 nachweisen (Abb. 2.5). Die Bedeutung der Kontakte für die Thrombozytenreaktionen ist noch unklar (Clemetson 2002).

Wird die Aggregation durch schwache Agonisten wie ADP unter physiologischen extrazellulären $Ca^{2+}$-Konzentrationen ausgelöst, ist dieser Vorgang auch *in vivo* reversibel. Zur irreversiblen Aggregation kommt es unter starker Stimulation (▶ Kap. 2.6.2), und alle Aktivierungsreaktionen (Degranulation, Reorganisation des kontraktilen Zytoskeletts) begleiten die Aggregation (▶ Kap. 2.3.3, 2.4.6 und 2.6.2).

Die Fähigkeit der Thrombozyten, Fibrin- und Kollagenfasern zu retrahieren, ist an die geschilderten Ligand-Rezeptor-Beziehungen gebunden. Bei dieser Thrombozytenfunktion spielt das über Linkermoleküle an die Rezeptoren gebundene kontraktile Zytoskelett (▶ Kap. 2.6.2) eine wichtige Rolle.

## 2.3 Strukturelle Zone

### 2.3.1 Zellplasma und Zytoskelett

Das Grundplasma (Hyaloplasma oder Zytosol) unstimulierter Thrombozyten zeigt im TEM einen feingranulären Aspekt. Eingelagert sind Ansammlungen von Glykogenpartikeln und selten freie Ribosomen. Im Grundplasma des nichtaktivierten Thrombozyten (Abb. 2.2, 2.3) verläuft eine marginale Mikrotubulusspirale. Mikrofilamente sind im Ultradünnschnitt des ruhenden Thrombozyten kaum sichtbar, lassen sich aber durch Spezialmethoden darstellen (Nachmias 1980; Nakata u. Hirokawa 1987; Hartwig u. DeSisto 1991; Hartwig 2002). Nach Aktivation sieht man die Mikrofilamente im Ultradünnschnitt (▶ Kap. 2.3.3).

### 2.3.2 Zytoskelett des ruhenden Thrombozyten

Die Form der Diskozyten – wichtig für die Thrombozyten unter den stark wechselnden Bedingungen in der Zirkulation – wird aufrechterhalten durch 3 zytoskeletale Komponenten: submembranäres Spektrin, Filamin-A-verbundene Aktinfilamente und Mikrotubuli (Hartwig 2002). Spektrinmoleküle binden direkt an die zytoplasmatische Seite der Plasmamembran. Sie sind über Adducin an Aktinfilamente gebunden, die als rigides, lockeres Netzwerk das Zytoplasma durchziehen. Ein marginal verlaufender, spiralig aufgerollter einziger Mikrotubulus bildet die dritte formgebende Komponente der Diskozyten (Kenney u. Linck 1985).

Das submembranäre Zytoskelett (SMC) bildet ein viskoelastisches Gel, welches zusammen mit der marginalen Mikrotubulusspirale vor allem gegen Scherkräfte stabilisiert. Das SMC beeinflusst die Glykoprotein- bzw. Rezeptorverteilung an der Oberfläche der Diskozyten. Dieses Aktin ist über Filamin an die Glykoproteine GP Iα (Rezeptor für Kollagen), GP Ib (Rezeptor für Thrombin und Von-Willebrand-Faktor) und GP IX in der Membran gebunden (Kovacsovics u. Hartwig 1996; Hartwig 1992, 2002). Aktivation bewirkt Dissoziation des GP Ib–IX vom SMC und wie in anderen sekretorischen Zellen die Auflösung des SMC (Hartwig 1992, 2002). Solche Prozesse laufen über eine Degradation von Aktin-Membran-Linkerproteinen oder durch gelsolininduzierte Fragmentierung des Aktins ab. Wie in anderen Zellen auch verhindert das SMC die Fusion der sekretorischen Organellen der Thrombozyten (Flaumenhaft et al. 2005) mit der Plasmamembran und stellt damit eine Exozytosebarriere dar.

Auch die Bildung von Mikropartikeln aus der Plasmamembran aktivierter Thrombozyten (▶ Kap. 2.9), ein interessanter Apoptosevorgang der Thrombozyten (Leytin et al. 2004; Morel et al. 2006), geht mit einer Veränderung des SMC einher. Durch Hydrolyse des aktinbindenden Proteins wird die Anbindung der Membran an die Aktinfilamente des SCM (siehe oben) zerstört. Die Abb. 2.6 zeigt die Abschnürung (»shedding«) von Zytoplasmafragmenten (Membranpartikeln) von der Plasmamembran, die mit dem Ionophor A23187 induziert wurde. Wie der gezeigte Mechanismus erklärt, haben die *in vivo* beobachteten Membranpartikel eine prokoagulatorische Wirkung, da sie die Oberflächenkomponenten aktivierter Thrombozyten aufweisen.

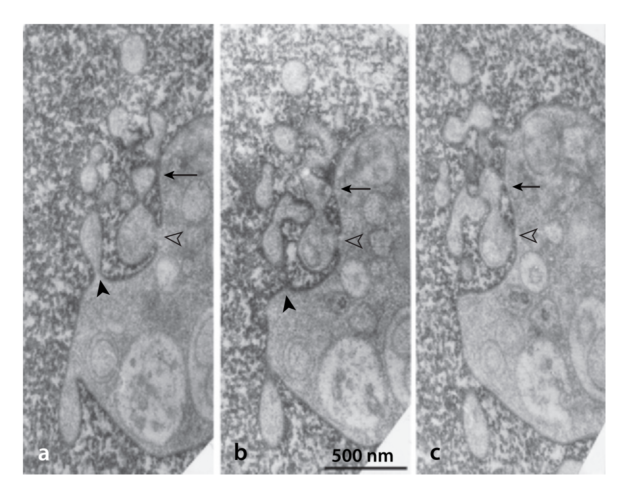



**Abb. 2.6a–c.** Abschnürung von Mikropartikeln aus einem Thrombozyten (Kryofixiation)**.** 60 s nach Zugabe des Kalziumionophoren A23187 (6 mmol in Dimethylsulfoxid) in Zitratplasma (Experiment P. A. Holme, Rikshospitalet der Universität Oslo, Elektronenmikroskopie E. Morgenstern) zeigen 3 Serienschnitte aus einer Serie eine degranulierte Zelle, die von einer Anzahl zytoplasmatischer Profile aus entstandenen Filopodien (*Pfeilspitzen*) umgeben ist. Die Stellen der Abschnürung von Zytoplasmafragmenten von der Plasmamembran sind indiziert (*Pfeile und Pfeilspitzen*)

### 2.3.3 Kontraktiles Zytoskelett

Aktiviert durch den Einfluss von Agonisten (Strukturen des Subendothels, lösliche Faktoren aus Endothel- oder Bindegewebszellen) formiert sich in den Thrombozyten ein kontraktiles Gel aus zytoplasmatischen Aktin- und Myosinmolekülen, welche im Ruhezustand weitgehend nichtpolymerisiert vorliegen. Es umschließt zunächst die Masse der Zellorganellen. Die Konstriktion dieses Gels bewirkt die zentrale Zusammenlagerung der Organellen (Abb. 2.7) und unterstützt so enge Membrankontakte (Appositionen) zwischen den sekretorischen α-Granula und Serotoningranula, die der Fusion zu Compoundgranula bei der Exozytose vorangehen (▶ Kap. 2.4.6). Andererseits werden über Rezeptoren und Linkermoleküle an das kontraktile Gel gebundene molekulare Liganden (Fibrinogen, Abb. 2.4) oder Fasern (Fibrin, Kollagen) retrahiert (▶ Kap. 2.6.2).

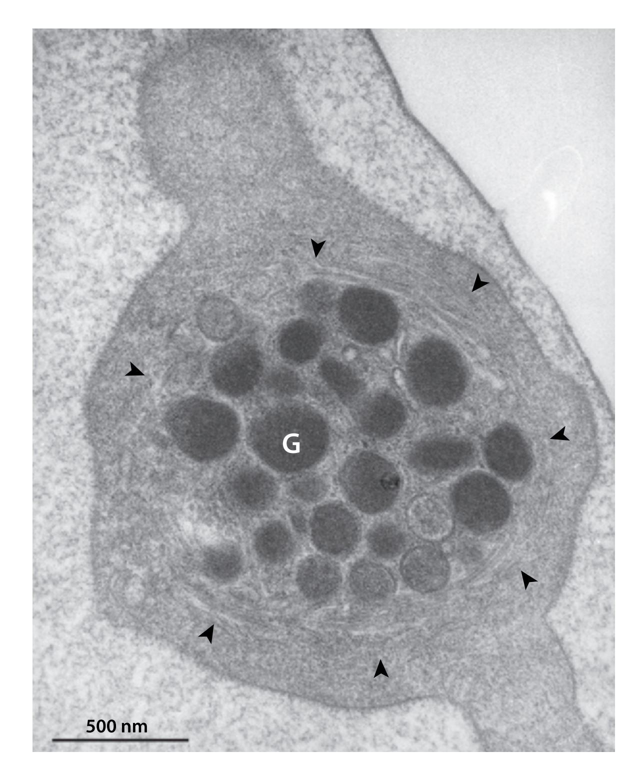



**Abb. 2.7.** Kontraktiles Zytoskelett eines aktivierten »Echinosphärozyten« nach 20 s Kollagenaktivierung (Kryopräparation, Experiment und Aufnahme E. Morgenstern). Der Ultradünnschnitt zeigt Formwandel (Abrundung und Pseudopodienbildung) und die zentralisierten Zellorganellen (*G*), umschlossen vom kontraktilen Zytoskelett und Mikrotubuli (*Pfeilspitzen*). Die Exozytose hat noch nicht eingesetzt, das SCS ist für die notwendige Oberflächenvergrößerung evaginiert

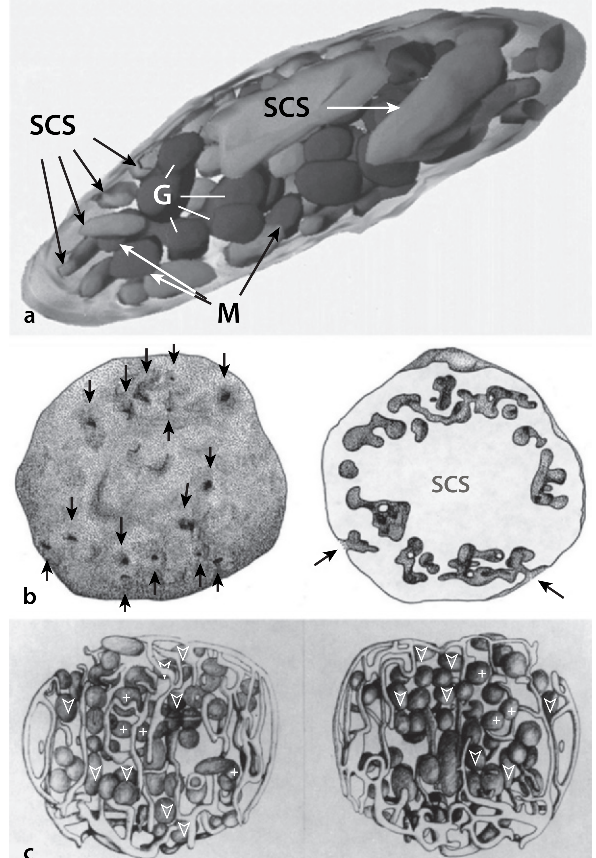



**Abb. 2.8a–c.** Rekonstruktionen der Form und Struktur diskoider Thrombozyten. **a** Computerunterstützte 3-D-Rekonstruktion eines Diskozyten aus Serienschnitten (Computerarbeit D. Bastian, Homburg). *Transparent* Plasmamembran, *SCS* »surface connected system«, *G* α-Granula, *M* Mitochondrien, **b** Wachsplattenrekonstruktion eines Diskozyten aus Serienschnitten. *Links* Oberfläche mit Öffnungen des SCS (vgl. ► Kap. 2.2.1 und 2.5.1). *Rechts* SCS in den randnahen Bezirken des Diskozyten, **c** Die Wachsplattenrekonstruktion eines Diskozyten aus Serienschnitten zeigt die Anordnung des DTS als zirkumferenzielle Struktur in der Zone der marginalen Mikrotubulusspirale. Im Zellinneren umgeben die dichten Tubuli die Zellorganellen α-Granula, Serotoningranula (+) und Mitochondrien (▽)

## 2.4 Zone der Organellen

### 2.4.1 »Dense tubular system« (DTS)

Das abgeschlossene Membransystem – wegen seiner Ultrastruktur nach konventioneller Fixation als »dense tubular system« bezeichnet – ist ubiqitär im Zytoplasma der Thrombozyten verteilt (Werner u. Morgenstern 1980). Seine verzweigten Tubuli sind sowohl in der Nähe des marginalen Bündels der Mikrotubuli als auch in enger Nachbarschaft zu den zentral gelegenen Organellen zu finden (Abb. 2.8).

In vielen Thrombozyten lassen sich Komplexe zwischen »surface connected system« (SCS) und DTS beobachten (White 1972). Nach Gefrierfixation (Abb. 2.2) besteht das DTS aus sehr englumigen Zisternen und bläschenförmigen Abschnitten – wie ein regelrechtes agranuläres endoplasmatisches Retikulum. Lipide, divalente Kationen, Proteine, Peroxidasen und Markerenzyme für endoplasmatisches Retikulum sind ultrazytochemisch in den Tubuli nachgewiesen (Nichols et al. 1984).

Nicht selten sind Ribosomen an den Membranen des DTS erkennbar, was die Herkunft des Systems aus dem endoplasmatischen Retikulum der Megakaryozyten verdeutlicht. Der Volumenanteil des DTS wird auf 1,4% des Thrombozytenvolumens geschätzt (Tab. 2.1, 2.3 [Morgenstern 1997]). Für seine regulative Funktion bei Thrombozytenreaktionen sprechen die ubiquitäre Verteilung, die Akkumulation von Kalziumionen und die vielen Hinweise auf die Lokalisation von ATPasen, Adenylatzyklase und Enzymen des Endoperoxidstoffwechsels in den Membranen des DTS (Morgenstern 1997).

**Tab. 2.3.** Normalwerte der relativen Volumina von Zellstrukturen in unstimulierten Thrombozyten

| | Relative Volumenanteile am Plättchenvolumen [Vol.-%] |
|---|---|
| »Surface connected system« | 6–20 |
| »Dense tubular system« | 1,4 |
| α-Granula | 9–15 |
| »Dense bodies« | 0,3–1,2 |
| Mitochondrien | 1–2,8 |

### 2.4.2 Mitochondrien

Im TEM findet man pro Thrombozytenanschnitt etwa 2 Mitochondrien (Beispiel in Abb. 2.2). Sie haben einen Durchmesser von etwa 200 nm, enthalten reichlich Cristae und erreichen mit einem Anteil von 3% am Zytoplasmavolumen (Tab. 2.3) eine Größenordnung wie in glatten Muskelzellen oder Monozyten. Die Rolle der Mitochondrien im Energiemetabolismus der Thrombozyten wird mit diesen Daten gut belegt (Holmsen 1990).

### 2.4.3 α-Granula

Die α-Granula haben einen Anteil bis zu 15% am Thrombozytenvolumen (Tab. 2.3). Die 150–400 nm großen Organellen sind im nichtaktivierten Thrombozyten sphäroid und liegen zentral, durch Zytoplasma voneinander, von der Plasmamembran und vom SCS separiert (Abb. 2.2, 2.8). Sie zeigen eine dichte Matrix, in die ein elektronendichteres »Nukleoid« eingelagert ist. Die Organellenmembran kann Protrusionen aufweisen (Abb. 2.9, 2.10), die glatt oder als »coated membranes« ausgebildet sind. Die α-Granula sind Speicherorganellen für eine Anzahl verschiedener Proteine. Nach ihrer Freisetzung sind diese Moleküle an einer Vielzahl von Reaktionen der Thrombozyten beteiligt (▶ Kap. 7).

Viele Inhaltsstoffe der α-Granula sind Proteine des Blutplasmas, und Thrombozyten sind in der Lage, Moleküle wie Fibrinogen oder aber Albumin und Immunglobuline aus dem umgebenden Plasma aufzunehmen und in den α-Granula zu speichern (▶ Kap. 2.6.1).

Neben dem Fibrinogenrezeptor Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ sind in den α-Granula-Membranen auch andere Membranproteine nachweisbar. Außerdem findet man dort Glykoproteine, die nur bei Exozytose an der Thrombozytenoberfläche erscheinen (▶ Kap. 7).

### 2.4.4 Elektronendichte Granula (»dense bodies«)

Thrombozyten enthalten etwa 5–6 Serotoningranula (»dense bodies«). Ihr Volumenanteil wird auf 0,3–1,2% des Thrombozytenvolumens geschätzt (Tab. 2.3). Die etwa 200 nm großen Organellen unterscheiden sich von den α-Granula durch einen elektronendichteren Inhalt (Abb. 2.2), der die Organellen nicht immer völlig ausfüllt. Der dichte Kern ist im Ultradünnschnitt oft ausgebrochen (Abb. 2.13). Die Elektronendichte ist auf Kalziumionen sowie auf anorganisches Phosphat zurückzuführen (Übersichten bei White 1992; Reed 2002). In unfixiert auf befilmte Netze gebrachten Thrombozyten lassen sich die Organellen im TEM gut erkennen und leicht quantifizieren (Abb. 2.11). Hohe Konzentrationen von Nukleotiden (ATP, ADP) und Serotonin (▶ Kap. 7) in den »dense bodies« ermöglichen die differenzierende Darstellung mit Uranverbindungen im TEM (uranaffine Reaktion).

### 2.4.5 Lysosomen und Peroxisomen

Lysosomen werden ultrazytochemisch als ein weiterer, kleiner Organellentyp differenziert (175–250 nm im Durchmesser; Sixma et al. 1989). Das Auftreten von sekundären Lysosomen und die Bildung von Autophagozytosevakuolen sind beschrieben (Behnke 1992). Auch Mikroperoxisomen können als katalasereaktive Organellen nach Inkubation in Diaminobenzidinlösung bei pH 9,7 von α-Granula und anderen Zellorganellen unterschieden werden (Stenberg u. Bainton 1986).

### 2.4.6 Exozytose

Nach starker Stimulation bilden die Membranen der α-Granula und »dense bodies« Appositionen, d. h. punktuelle Kontakte der Organellenmembran mit der Plasmamembran (Morgenstern u. Edelmann 1989; Fritz et al. 1994). Oft nehmen die α-Granula dabei eine langgestreckte Form an. Die Appositionen gelten als Präfusionsstadien des Exozytoseprozesses. Die sekretorischen Organellen fusionieren nach Bildung von Appositionen mit der Plasmamembran (Abb. 2.12). Beide Organellentypen, α-Granula und »dense bodies« (Abb. 2.13), können diesen Prozess einleiten (Morgenstern et al. 1995). Sie schwellen nach Entstehen einer Fusionspore und Wassereinstrom aufgrund ihrer sehr hohen Stoffkonzentrationen stark an. Weitere Fusionen mit benachbarten α-Granula und »dense bodies« werden durch die konstriktorische Aktion des kontraktilen Gels (▶ Kap. 2.3.3) unterstützt und führen zu ausgedehnten Compoundgranula (Abb. 2.12). Deren Inhalt wird mithil-

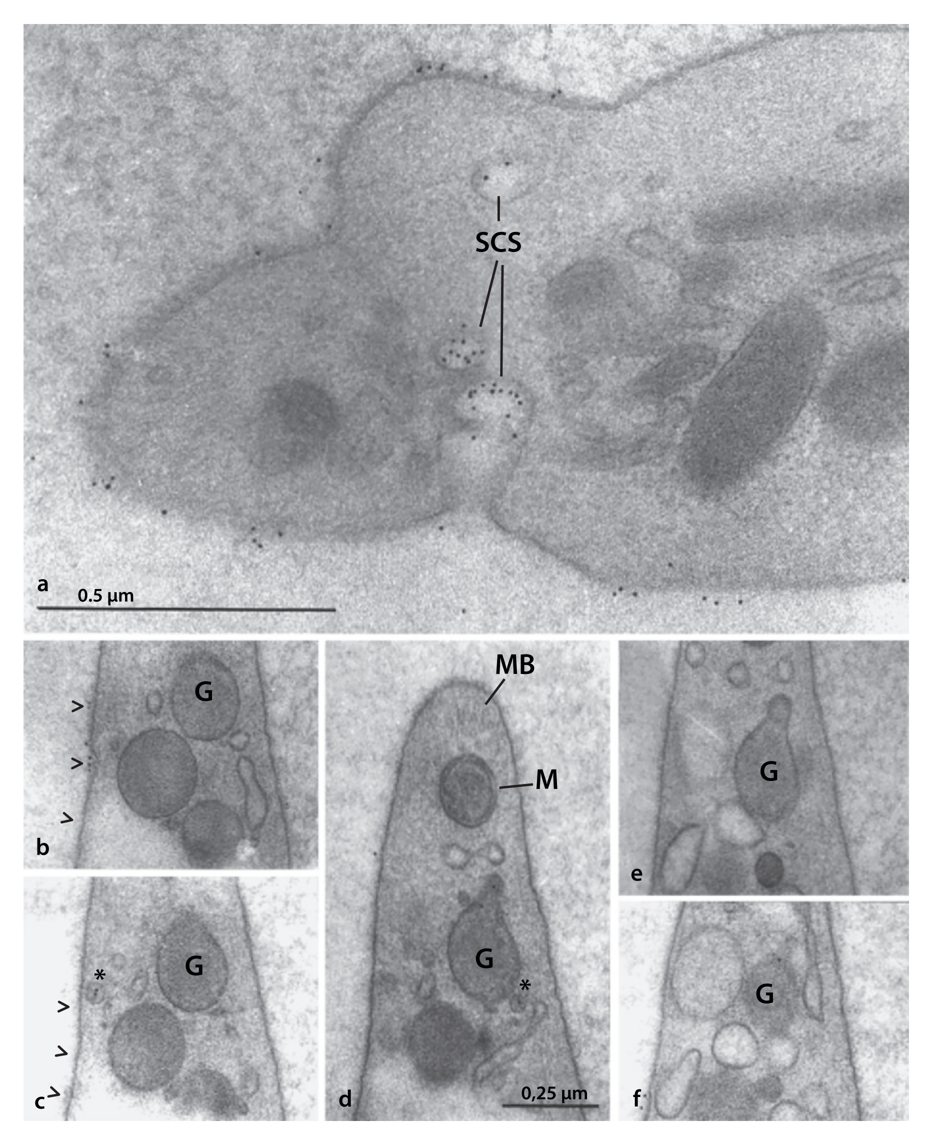



**Abb. 2.9a–f.** Transport von monoklonalem Antiintegrin $\alpha_{IIb}\beta_3$-IgG (P2), markiert mit IgG-Gold, in die α-Granula des ruhenden Thrombozyten (Experiment A. Ruf, Klinikum Karlsruhe, methodische Details in Morgensten et al. 1992). **a** Der kryofixierte Thrombozyt zeigt 10 min nach Inkubationsbeginn Markierungen an der Oberfläche und im »surface connected system« (*SCS*), **b–f** Die Schnittserie aus einem kryofixierten Diskozyten zeigt nach 90 min Inkubation Goldmarkierung an der Oberfläche (*Pfeilspitzen*), sequestriert in Vesikeln (*, **c** und **d**) und in einem α-Granulum (*G*), das oben eine Protrusion mit Goldpartikeln aufweist (**d** und **e**). *MB* marginale Mikrotubuli; *M* Mitochondrium

fe des kontraktilen Zytoskelettes ausgetrieben (▶ Kap. 2.3.3). Degranulierte Thrombozyten weisen ein Konvolut von mehr oder weniger dilatierten Vesikeln auf. Nach Deaktivierung nehmen solche Zellen (»exhausted platelets«) wieder Diskusform an.

Der hier beschriebene Exozytoseweg basiert auf Beobachtungen aus gefrierfixierten Thrombozyten (Morgenstern et al. 1987, 1995). Diese Methode (»rapid freezing«) mit einer Fixierungsdauer unter 1 µs (Aldehydfixation 1 s) ist in der Lage, sehr schnell verlaufende Zellprozesse wie die gezeigte Formation einer Fusionspore (über 2 µs) festzuhalten (Morgenstern u. Edelmann 1989). Andere elektronenmikroskopische Arbeiten an chemisch fixierten Thrombozyten während der Exozytose suggerieren eine Sekretion der Granulainhaltsstoffe über das SCS (White 1970; White u. Krumwiede 1987; Escolar u. White 1991). In Übersichtsartikeln werden meist beide Exozytosemechanismen erwähnt (Reed 2002).

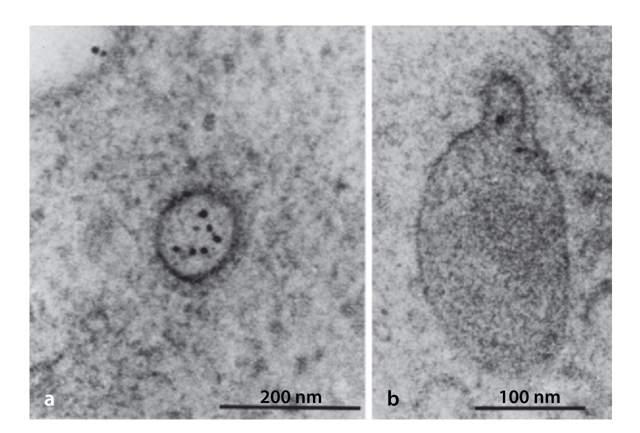



**Abb. 2.10a,b.** »Coated membranes« in Thrombozyten (Experiment A. Ruf, Klinikum Karlsruhe, methodische Details in Morgenstern et al. 1992). **a** »Coated vesicle«, **b** »coated membranes« an der Protrusion eines α-Granulum. Beide Strukturen enthalten monoklonales Antiintegrin $\alpha_{IIb}\beta_3$-IgG (P2), markiert mit IgG-Gold

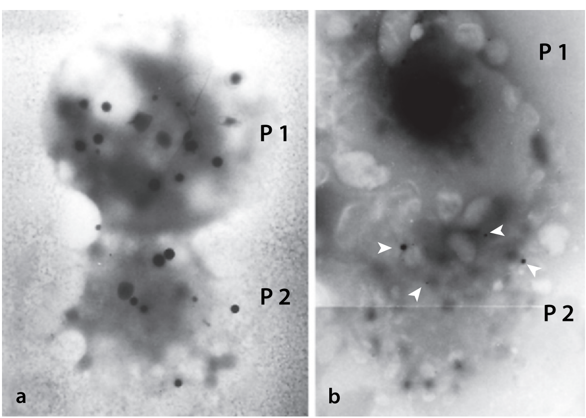



**Abb. 2.11a,b.** Serotoningranula in unfixiert auf befilmte Netze gebrachten Thrombozyten (Aufnahme E. Morgenstern). Serotoningranulaorganellen sind im TEM zu erkennen und zu quantifizieren, **a** 2 Plättchen (*P1*, *P2*) einer Normalperson, **b** 2 Plättchen (*P1*, *P2*) einer Person mit »storage pool disease« und wenigen Granula (*Pfeilspitzen* )

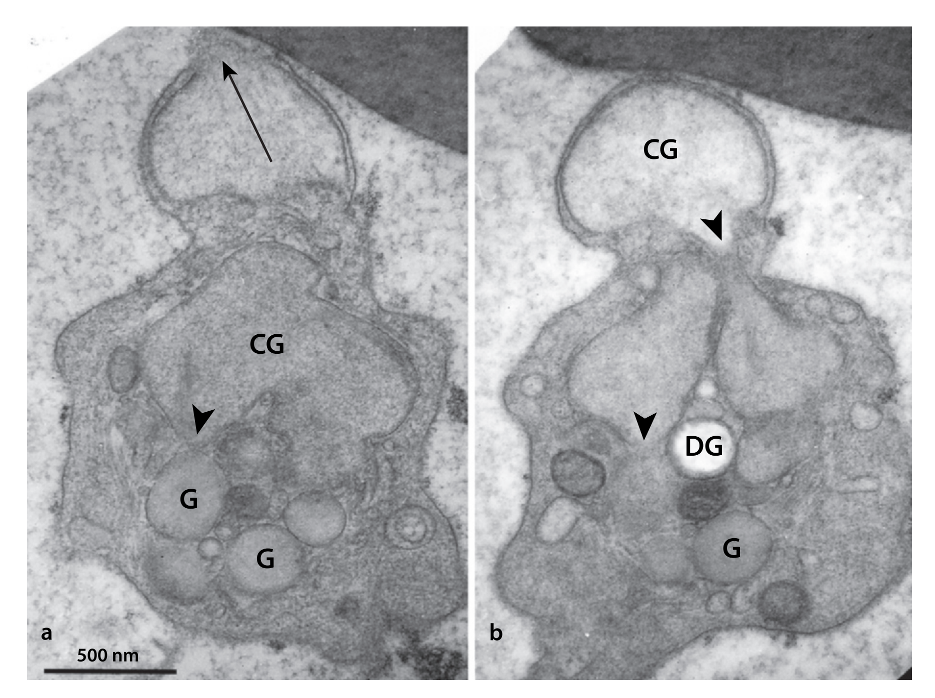
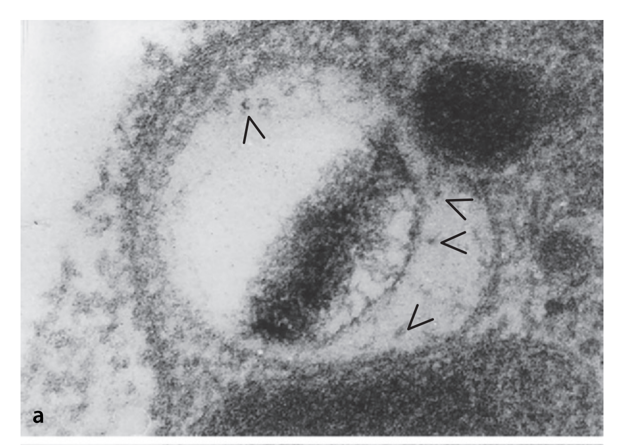
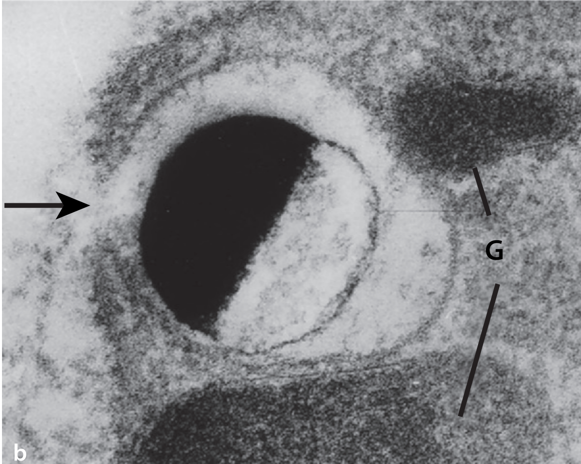



**Abb. 2.12a,b.** Bildung von Compoundgranula bei der Exozytose eines thrombinstimulierten Thrombozyten (Präparation und Aufnahme E. Morgenstern). **a** Am oberen Bildrand ist ein geschwollenes α-Granulum mit einer Fusionspore (*Pfeil*) und darunter ein ausgedehntes Compoundgranulum (*CG*) mit Appositionen zu 2 weiteren Granula (*G*) zu sehen (Kryopräparation), **b** In einem anderen Schnitt dieser Serie ist die Verbindung zwischen den Compoundgranula (*CG*) dargestellt (*Pfeilspitzen*). *DG* Serotoningranulum



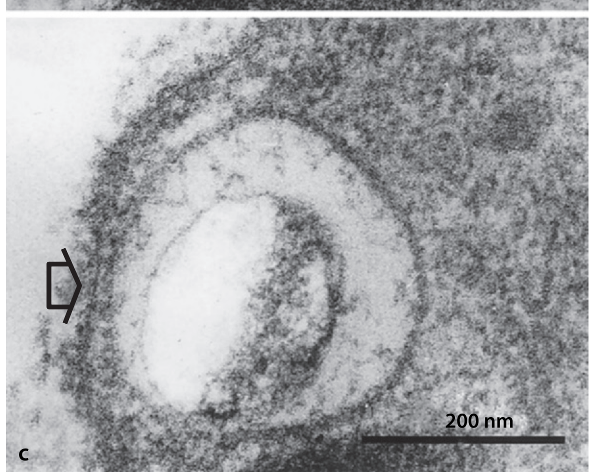




**Abb. 2.13a–c.** Serotoningranulum (»dense body«) bei der Exozytose (Serienschnitte). **a** Neben der elektronendichten Matrix liegen in der elektronenluzenten Phase der Organelle feine, dichte Partikel (*Pfeilspitzen*), **b** Fusionspore der Organelle mit der Plasmamembran (*Pfeil*) in einem thrombinstimulierten Thrombozyten (Kryopräparation), **c** Charakteristische Eindellung (»dimpling«) der Plasmamembran in der Umgebung der Fusionsstelle (*Pfeil*), die elektronendichte Matrix füllt nur einen Teil der Organelle aus

## 2.5 Membransysteme

### 2.5.1 Das oberflächenverbundene Membransystem (SCS)

Das für unstimulierte Thrombozyten des Menschen charakteristische »surface connected system« (SCS) oder auch »open canalicular system« genannte Membransystem besteht aus verzweigten Kanälen (Behnke 1970; White 1970). Die Oberfläche der Diskozyten (Abb. 2.2, 2.8) zeigt Mündungen des SCS. Die Membranoberflächen des SCS haben etwa eine Ausdehnung wie die Plasmamembran oder die α-Granulamembranen (Tab. 2.1, 2.3). Wie auf der Plasmamembran sind dort auch u. a. die Plasmamembranrezeptormoleküle GP Ib und Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ lokalisiert (Abb. 2.9). Dieses interne Reservoir an adhäsiven Rezeptoren (Polley et al. 1981; Wencel-Drake et al. 1986; Woods et al. 1986; Wencel-Drake 1990; Morgenstern et al. 1992) gelangt nach Aktivierung der Thrombozyten an die Oberfläche.

Beim Formwandel oder bei der Ausbreitung der aktivierten Thrombozyten wird das SCS evaginiert. Auch bei der Bildung von »tethers« soll das SCS die Oberflächenvergrößerung bestreiten (▶ Kap. 7). Das SCS dient als Membranreservoir für diese schnellen Vorgänge. Die Reduzierung oder das Verschwinden des SCS beim Formwandel (Übersicht bei Morgenstern 1997) oder während der Ausbreitung (White et al. 1990) sind charakteristisch (Abb. 2.7). Dem SCS wird eine Rolle als Transportweg für Sekretionsprodukte aus den Speicherorganellen (▶ Kap. 2.4.6) zugeschrieben. Man findet aber nach Stimulation mit Thrombin lediglich Fusionen der Granula mit der Plasmamembran und nicht mit dem SCS, wenn geeignete Methoden zur Fixation verwendet werden (»rapid freezing« in ▶ Kap. 2.4.6).

### 2.5.2 »Coated membranes«

Membranabschnitte der Thrombozyten sind mit Klathrin in einer charakteristischen polyhedralen Anordnung auf der zytoplasmatischen Membranseite bedeckt. Sie sind allgemein in Zellen an Transportprozessen beteiligt. In den Thrombozyten (Abb. 2.10) findet man »coated membranes« als Einstülpungen (»pits«) der Plasmamembran oder des SCS, als »coated vesicles«, aber auch als Protrusionen der α-Granulamembran (Morgenstern 1982; Behnke 1989; Morgenstern et al. 1992).

## 2.6 Transportvorgänge

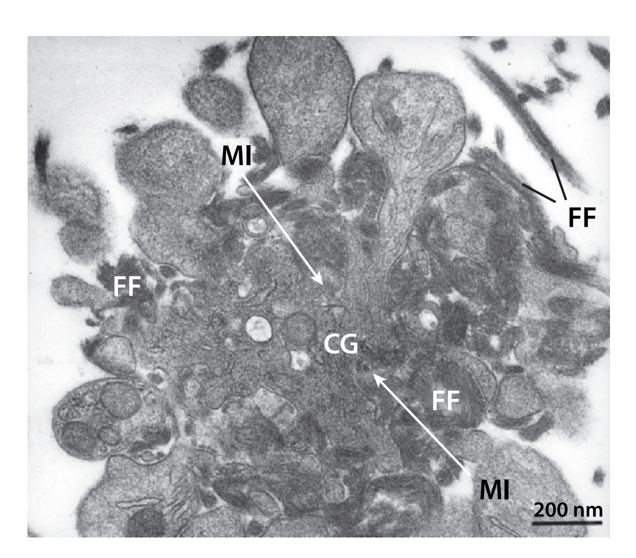
### 2.6.1 Konstitutioneller Transport im ruhenden Thrombozyten

Konstitutionelle Transportvorgänge laufen unabhängig vom Energiestoffwechsel und vom kontraktilen Gel in den ruhenden Thrombozyten ab. Sie führen zur Internalisation und zur Endozytose in die α-Granula. Beim Transport von kationisiertem Ferritin und Gold oder Thorotrast, markiertem Fibrinogen oder monoklonalen Antikörpern gegen Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ sind »coated membranes« beteiligt (▶ Kap. 2.5.2). Viele elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigen, dass sie eine Rolle beim konstitutionellen Transport von Molekülen von der Oberfläche in die α-Granula (▶ Kap. 2.4.3) spielen (Behnke 1989; Morgenstern et al. 1992; Harrison u. Cramer 1993; Klinger u. Klüter 1995; Heijnen et al. 1998)). Klathrinmoleküle der »coated membranes« oder das SMC (▶ Kap. 2.3.1) kommen als Mediatoren für solche Vorgänge infrage. Die Liganden werden in »coated vesicles« und – vor der Aufnahme in die α-Granula – in »uncoated vesicles« sequestriert (◘ Abb. 2.9, 2.10). Dieser stimulusunabhängige, konstitutionelle Vesikeltransport, der wie in anderen Zellen auch Endosomen (»multivesicular bodies«) einschließt (Heijnen et al. 1998; Reed 2002), erklärt die Aufnahme von Blutplasmaproteinen, die nicht in den Megakaryozyten synthetisiert werden, in die Speicherorganellen (▶ Kap. 2.4.3, 2.4.4). Wie in anderen Zellen scheinen »coated membranes« aber nicht immer Voraussetzung für solche Transportvorgänge zu sein. Die kontinuierlichen Vorgänge werden im ruhenden Thrombozyten durch ein Rezeptorecycling ermöglicht.

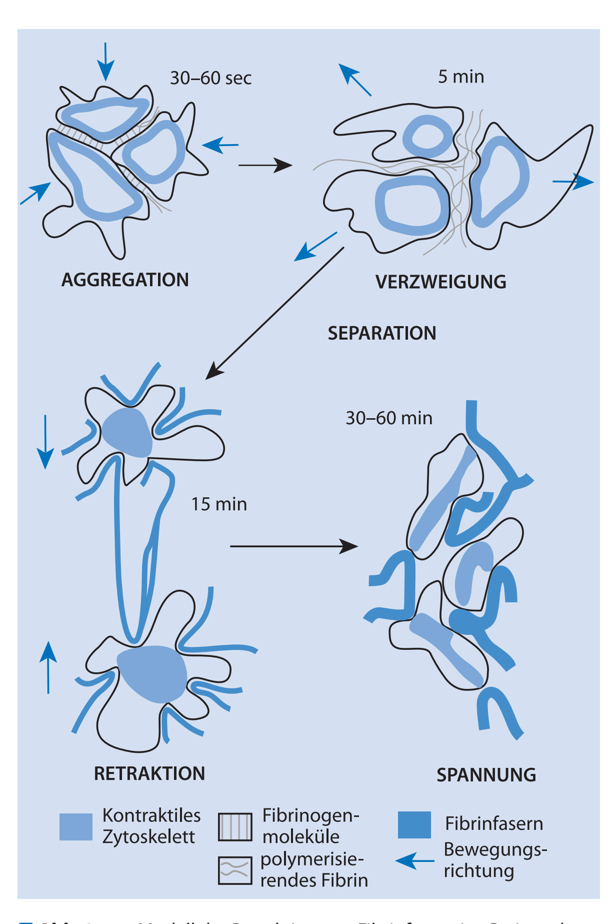
### 2.6.2 Internalisation im aktivierten Thrombozyten

Das kontraktile Gel ist die treibende Kraft für die Internalisation von Liganden in Membraninvaginationen (◘ Abb. 2.13). Diese Liganden sind entweder selbst Stimuli, z. B. Kollagen oder kationisierte Proteine, oder sie binden an die Oberfläche aktivierter Thrombozyten (z. B. Fibrinogen/Fibrin). Ein Beispiel für die Internalisation fibrillärer Liganden ist die thrombininduzierte Gerinnselbildung (Morgenstern et al. 2001).

Wie im Schema der ◘ Abb. 2.14 (Morgenstern et al. 2001) gezeigt, binden zunächst Fibrinogen bzw. polymerisierendes Fibrin an der Oberfläche der Thrombozyten, welche Aggregate bilden. Es entstehen Cluster von Ligandkomplexen mit dem Fibrinogenrezeptor Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$. Solche Cluster assoziieren via Linkerproteine an das kontraktile Zytoskelett und sind das Substrat fokaler Kontakte. Die bei der Fibrinpolymerisation entstehenden, sich verzweigenden Fibrinfasern separieren die aggregierten Thrombozyten




◘ **Abb. 2.14.** Thrombozyt bei der Retraktion von Fibrinfasern. Die einzeln liegende Zelle zeigt 15 min nach nach Thrombingabe Fibrinfasern (*FF*) in tiefen Membraninvaginationen (*MI*). Das kontraktile Zytoskelett (*CG*) ist gerade dabei, sich von der konstriktorischen Kugel in Filamentbündel umzuwandeln, die die Faserkontakte verbinden




◘ **Abb. 2.15.** Modell der Retraktion von Fibrinfasern im Gerinnsel durch Thrombozyten

voneinander. Adhärente Fibrinfasern werden durch die zentripetale Bewegung des kontraktilen Gels (Painter u. Ginsberg 1984) der nun frei im Fasernetz agierenden Thrombozyten internalisiert, und das entstehende Fibrinnetz wird dabei retrahiert. Unter der bei der Retraktion ansteigenden Spannung organisiert sich die vom kontraktilen Gel gebildete Kugel um. In retrahierten Gerinnseln verbinden Bündel aus Aktin- und Myosinfilamenten die fokalen Kontakte, die als Äquivalent der »stress fibers« der Fibroblasten angesehen werden können (Cohen et al. 1982; Übersicht bei Morgenstern 1997). Bei der Retraktion von Kollagenfasern werden vergleichbare Reaktionen des Zytoskeletts beobachtet (Abb. 2.15 [Morgenstern et al. 2001]; Erichson et al.1967; Ruf u. Morgenstern 1995).

## Danksagung

Frau Prof. Dr. Beate Kehrel, Münster, Herrn Prof. Dr. Rolf Dierichs, Münster, Herrn Prof. Dr. Pedro Mestres, Homburg, Herrn Prof. Dr. Nils Olav Solum und Herrn Dr. Pål Andre Holme, Oslo, sowie Herrn Dr. Andreas Ruf, Karlsruhe, danke ich für die kollegiale Zusammenarbeit. Mein Dank für geduldige Hilfe gilt auch Herrn Dr. Ludwig Edelmann und meinen ehemaligen Mitarbeiterinnen Frau Anne Vecerdea, Frau Sarah Schwarz, Frau Bettina Strauß und Herrn Dr. Daniel Bastian in Homburg.

## Literatur

Behnke O (1968) Electron microscopical observations on the surface coating of human blood platelets. J Ultrastruct Res 24: 51–69

Behnke O (1970) The morphology of blood platelet membrane systems. Ser Haemat 3: 3–16

Behnke O (1989) Coated pits and vesicles transfer plasma components to platelet granules. Thromb Haemost 62: 718–722

Behnke O (1992) Degrading and non-degrading pathways in fluid-phase (non-adsorptive) endocytosis in human blood platelets. J Submicrosc Cytol Pathol 24: 169–178

Born GVR, Richardson PD (1980) Activation time of blood platelets. J Membr Biol 57: 87–90

Clemetson KJ (2002) Platelet receptors. In: Michelson AD (ed) Platelets. Academic Press, New York, pp 65–84

Clemetson KJ, Clemetson JM (2001) Platelet collagen receptors. Thromb Haemost 86: 189–197

Cohen I, Gerrard JM, White JG (1982) Ultrastructure of clots during isometric contraction. J Cell Biol 93: 775–787

Dopheide SM, Maxwell MJ, Jackson SR (2002) Shear-dependent tether formation during platelet translocation on von Willebrand factor. Blood 99: 159–167

Erichson RB, Katz AJ , Cintron JR (1967) Ultrastructural observations on platelet adhesion reactions. I. Platelet-fibrin interaction. Blood 29: 385–400

Escolar G, White JG (1991) The platelet open canalicular system: a final common pathway. Blood Cells 17: 467–485

Feijge MAH, Heemskerk JWM, Hornstra G (1990) Membrane fluidity of non-activated and activated human blood platelets. Biochim Biophys Acta 1025: 173–178

Flaumenhaft R, Dilks JR, Rozenvayn N et al. (2005) The actin cytoskeleton differentially regulates platelet alpha-granule and dense granule secretion. Blood 105: 3879–3887

Fritz M, Radmacher M, Gaub HE (1994) Granula motion and membrane spreading during activation of human platelets imaged by atomic force microscopy. Biophys J 66: 1328–1334

Frojmovic MM, Milton JG (1982) Human platelet size, shape and related functions in health and disease. Physiol Rev 62: 185–261

Gear RL (1984) Rapid platelet morphological changes visualized by scanning-electron microscopy: kinetics derived from a quenched-flow approach. Brit J Haemat 56: 387–398

Harrison P, Cramer EM (1993) Platelet alpha-granules. Blood Rev 7: 52–62

Hartwig JH (1992) Mechanism of actin rearrangements mediating platelet activation. J Cell Biol 118: 1421–1442

Hartwig JH (2002) Platelet structure. In: Michelson AD (ed) Platelets. Academic Press, New York, pp 37–45

Hartwig JH, DeSisto M (1991) The cytoskeleton of the resting human blood platelet: structure of the membrane skeleton and its attachment to actin filaments. J Cell Biol 112: 407–425

Heemskerk JWM, Feijge MAH, Andree HAM et al. (1993) Function of intracellular [$Ca^{++}$] in exocytosis and transbilayer movement in human platelets surface-labeled with the fluorescent probe 1-(4-(tri methylammonio)phenyl)-6-phenyl-1.3.5-hexatriene. Biochim Biophys Acta 1147: 194–204

Heijnen HFG, Debili N, Vainchencker W et al. (1998) Multivesicular bodies are an intermediate stage in the formation of platelet α-granules. Blood 91: 2313–2325

Holmsen H (1990) Biochemistry and function of platelets. In: Williams WJ, Bentler E, Ersten AJ et al. (eds) Hematology. McGraw Hill, New York, pp 1182–1200

Holmsen H, Day HJ, Stormorken H (1969) The blood platelet release reaction. Scand J Haematol Suppl 8: 1–26

Iyengar GV, Borberg H, Kasperek K et al. (1979) Elemental composition of platelets. Part I. Sampling and sample preparation of platelets for trace-element analysis. Clin Chem 25: 699–704

Kamath S, Blann AD, Lip GYH (2001) Platelet activation: assessment and quantification. Eur Heart J 22: 1561–1571

Kenney D, Linck R (1985) The cytoskeleton of unstimulated blood platelets: structure and composition of the isolated marginal microtubule band. J Cell Sci 78: 1–22

Klinger MHF, Klüter H (1995) Immunocytochemical colocalization of adhesive proteins with clathrin in human blood platelets: Further evidence for coated vesicle-mediated transport of von Willebrand factor, fibrinogen and fibronectin. Cell Tissue Res 279:453

Kovacsovics TJ, Hartwig JH (1996) Thrombin-induced GPIb-IX centralization on the platelet surface requires actin assembly and myosin II activation. Blood 87: 618–629

Leytin V, Allen DJ, Mykhaylov S et al. (2004) Pathologic high shear stress induces apoptosis events in human platelets. BiochemBiophys Res Com 320: 303–310

Lüscher EF, Weber S (1993) The formation of the haemostatic plug – a special case of platelet aggregation. An experiment and a survey of the literature. Thromb Haemost 70:234–237

Maurer-Spurej E, Devine DV (2001) Platelet aggregation is not initiated by shape change. Lab Invest 81: 1517–1525

Maxwell MJ, Westein E, Nesbitt WS et al. (2007) Identification of a 2-stage platelet aggregation process mediating shear-dependent thrombus formation. Blood 109: 566–576

Morel O ,Toti, F, Bakouboula B et al. (2006) Procoagulant Microparticles: »Criminal partners« in Atherothrombosis and Deleterious Cellular Exchanges. J Pathophys Haemost Thromb 35: 15–22

Morgenstern E (1982) Coated membranes in blood platelets. Eur J Cell Biol 26: 315–318

Morgenstern E (1997) Platelets morphology/ultrastructure. In: Bruchhausen Fv., Walter U (eds) Platelets and their factors. Handbook of

Experimental Pharmacology. Vol. 126. Springer, Berlin Heidelberg New York Tokyo, pp 27–60

Morgenstern E, Edelmann L (1989) Analysis of dynamic cell processes by rapid freezing and freeze substitution. In: Plattner H (ed) Electron microscopy of subcellular dynamics. CRC Press, Boca Raton/Florida 119–140

Morgenstern E, Edelmann L, Reimers H-J et al. (1985) Fibrinogen distribution on surfaces and in organelles of ADP stimulated human blood platelets. Eur J Cell Biol 38: 292–300

Morgenstern E, Neumann K, Patscheke H (1987) The exocytosis of human blood platelets. A fast freezing and freeze-substitution analysis. Eur J Cell Biol 43: 273–282

Morgenstern E, Ruf A, Patscheke H (1992) Transport of anti-glycoprotein IIb/IIIa-antibodies into the alpha-granules of unstimulated human blood platelets. Thromb Haemostas 67: 121–125

Morgenstern E, Bastian D, Dierichs R (1995) The formation of compound granules from different types of secretory organelles in human platelets (dense granules and alpha-granules). A cryofixation/-substitution study using serial sections. Eur J Cell Biol 68: 183–190

Morgenstern E, Daub M, Dierichs R (2001) A new model for in vitro clot formation that considers the mode of the fibrin(ogen) contacts to platelets and the arrangement of the platelet cytoskeleton. Ann NY Acad Sci 936: 449–455

Morgenstern E, Boeckel N, Lüscher F (2007) Do ADP activated platelets in vitro aggregate as discocytes? Thromb Haemost 98: 73–76

Nachmias VT (1980) Cytoskeleton of human platelets at rest and after spreading. J Cell Biol 86: 795–802

Nakata T, Hirokawa N (1987) Cytoskeletal reorganization of human platelets after stimulation revealed by quick-freeze deep-etch technique. J Cell Biol 105: 1771–1780

Nichols BA, Setzer PY, Bainton DF (1984) Glucose-6-phosphatase as a cytochemical marker of endoplasmic reticulum in human leukocytes and platelets. J Histochem Cytochem 32 :165–171

Nossel HL, Wilner GD. LeRoy EC (1968) Aggregation of platelets by collagen. J Clin Invest 47: 2616–2621

Painter RG, Ginsberg MH (1984) Centripetal myosin redistribution in thrombin-stimulated platelets. Relationship to platelet factor 4 secretion. Exp Cell Res 155: 198–212

Patscheke H (1981) Shape and functional properties of human platelets washed with acid citrate. Haemostasis 10:14–27

Polley MJ, Leung LLK, Clark FY et al. (1981) Thrombin-induced platelet membrane glycoprotein IIb and IIIa complex formation. An electron microscope study. J Exp Med 154: 1058–1068

Reed GL (2002) Platelet secretion. In: Michelson AD (ed) Platelets. Academic Press, New York, pp 181–195

Reininger AJ, Heijnen HF, Schumann H et al. (2006) Mechanism of platelet adhesion to von Willebrand factor and microparticle formation under high shear stress. Blood 107: 3537–3545

Ruf A, Morgenstern E (1995) Ultrastructural aspects of platelet adhesion on subendothelial structures. Sem Thromb Hemost 21: 119–122

Ruggeri ZM, Orje JN, Habermann R et al. (2006) Activation-independent platelet adhesion and aggregation under elevated shear stress. Blood 108: 1903–1910

Siess W (1989) Molecular mechanisms of platelet activation. Physiol Rev 69: 58–178

Sixma JJ, Slot JW, Geuze HJ (1989) Immunocytochemical localization of platelet granule proteins. Methods Enzymol 169: 301–311

Skaer RJ, Emmines JP, Skaer HB (1979) The fine structure of cell contacts in platelet aggregation. J Ultrastruct Res 69: 28–42

Smeets EF, Comfurius P, Bevers EM et al. (1994) Calcium-induced transbilayer scrambling of fluorescent phospholipid analogs in platelets and erythrocytes. Biochim Biophys Acta 1195: 281–286

Stenberg PE, Bainton DF (1986) Storage organelles in platelets and megakaryocytes. In: Philipps DR, Shuman MA (eds) Biochemistry of platelets. Academic Press, New York, pp 257–294

Stuart MC, Bevesr EM, Comfurius P et al. (1995) Ultrastructural detection of surface exposed phosphatidylserin on activated blood platelets. Thromb Haemost 74: 11451–11455

Voss R, Morgenstern E, Waas W et al. (2006) No increase in CD62P-positive single platelets after acute platelet activation in vivo. Thrombos Res 117: 393–399

Wencel-Drake JD (1990) Plasma membrane GPIIb/IIIa – evidence for a cycling receptor pool. Am J Pathol 136: 61–70

Wencel-Drake JD, Plow EF, Kunicki TJ et al. (1986) Localization of internal pools of membrane glycoproteins involved in platelet adhesive responses. Am J Pathol 124: 324–334

Werner G, Morgenstern E (1980) Three-dimensional reconstruction of human blood platelets using serial sections. Eur J Cell Biol 20: 276–282

White JG (1970) A search for the platelet secretory pathway using electron dense tracers. Am J Pathol 58: 31–49

White JG (1972) Interactions of membrane systems in blood platelets. Am J Pathol 66: 295–305

White JG (1992) The dense bodies of human platelets. In: Meyers KM, Barnes CD (eds) The platelet amine storage granule. CRC Press, Boca Raton Ann Arbor London Tokyo, pp 1–29

White JG, M Krumwiede M (1987) Further studies of the secretory pathway in thrombin-stimulated human platelets. Blood 69: 1196–1203

White JG, Leistikow EL, Escolar G (1990) Platelet membrane responses to surface and suspension activation. Blood Cells 16: 43–72

Williamson P, Bevers EM, Smeets EF et al. (1995) Continuous analysis of the mechanism of activated transbilayer lipid movement in platelets. Biochemistry 34: 10448–10455

Woods VL, Wolff LE, Keller DM (1986) Resting platelets contain a substantial centrally located pool of glycoprotein IIb/IIIa complex which may be accesible to some but not other extracellular proteins. J Biol Chem 261: 15242–15251

Youssefian T, Masse JM, Rendu F et al. (1997) Platelet and megakaryocyte dense granules contain glycoproteins Ib and IIb-IIIa. Blood 89: 4047–4057

Zwaal RFA, Hemker HC (1982) Blood cell membranes and haemostasis. Haemostasis 11: 12–39

# 3 Thrombozytopoese

*R. Möhle, H.-G. Kopp, L. Kanz*

## Einleitung

Thrombozyten entstehen als kernlose Blutzellen aus den polyploiden Megakaryozyten des Knochenmarks, die sich wiederum unter dem Einfluss thrombopoetischer Wachstumsfaktoren, insbesondere des Thrombopoetins (TPO), aus diploiden, pluripotenten hämatopoetischen Stammzellen entwickeln. Megakaryozyten sind unter den myeloischen Zellen selten, ihre Häufigkeit macht nur eine unter etwa 2.000 aller nukleären Zellen aus. Nur ausnahmsweise werden sie auch außerhalb des hämatopoetischen Gewebes gefunden, so im peripheren Blut und in der Lunge. Im Falle eines erhöhten Umsatzes von Thrombozyten, etwa bei der Immunthrombopenie, kann ihre Anzahl aber bis zum Zehnfachen ansteigen.

Während die pluripotenten Stammzellen in der sogenannten »Stammzellnische« am Endost lokalisiert sind, befinden sich Megakaryozten, die größten hämatopoetischen Zellen überhaupt, wohl wegen ihrer eingeschränkten Beweglichkeit und ihres großen Volumens (im Durchschnitt etwa 15.000 fl) an der Stelle, wo sie die Thrombozyten direkt in die Zirkulation entlassen können, nämlich in der subendothelialen Schicht der Knochenmarksinus. Nachdem sich mononukleäre megakaryozytäre Vorläuferzellen in diese »vaskuläre Nische« begeben haben, machen sie DNS-Verdopplungen in einer besonderen Weise ohne nachfolgende Zellteilung durch, die sogenannte Endomitose.

Im weiteren Verlauf der Differenzierung sammeln die zunehmend polyploiden Megakaryoblasten bzw. -zyten immer mehr durch komplexe Membransysteme kompartimentalisierte zytoplasmatische Masse an, die am Ende der Reifung plötzlich lange verzweigte Fortsätze, sogenannte Prothrombozyten, hervorbringt. Ihre Enden ragen in die Knochenmarksinus hinein und geben die Blutplättchen ab.

Nach einer alternativen Theorie desintegriert der reife Megakaryozyt abrupt und setzt auf diese Weise 1.000–8.000 bereits im Zytoplasma präformierte Plättchen mit einem Volumen von 7–9 fl frei, möglicherweise erst nach Migration durch den venösen Blutstrom in die Lungenstrombahn. Während man schon recht viel über die Regulation der Megakaryozytenentwicklung und -differenzierung aus Stamm- und Progenitorzellen weiß, ist insbesondere der Prozess der Plättchenfreisetzung noch nicht eindeutig geklärt.

## 3.1 Die Entwicklung der megakaryozytären Zellreihe aus den hämatopoetischen Stammzellen

### 3.1.1 Pluripotente Stammzellen

Am Anfang der Entwicklung der Megakaryozyten stehen die pluripotenten Stammzellen, die einen sehr geringen Anteil an den kernhaltigen Zellen des Knochenmarks ausmachen (<0,1%), aber die Bildung von allen zirkulierenden, reifen Blutzellen für die gesamte Lebensspanne aufrechterhalten [1]. Morphologisch kann man sie kaum von anderen mononukleären Zellen, insbesondere nicht von den Lymphozyten, unterscheiden. Immunphänotypisch sind sie charakterisiert durch die Expression von »cluster of differentiation« CD34 und CD133, allerdings lassen sich diese Antigene auch auf den schon liniendeterminierten Progenitorzellen finden. Durch weitere Oberflächenmarker (z. B. Negativität für CD38) lässt sich die Fraktion der Stammzellen näher eingrenzen, jedoch ist kein Antigen bekannt, das eine exakte Diskriminierung von den übrigen hämatopoetischen Zellen erlaubt. Dies gilt insbesondere für die humane Hämatopoese. Bei der Maus ist die sogenannte LSK-Zellpopulation, die durch das Fehlen linienspezifischer Marker sowie starke Expression von Sca-1 (»stem cell antigene-1«) und c-kit (CD117) charakterisiert ist, hoch angereichert mit hämatopoetischen Stammzellen. Es gelingt unter günstigen Bedingungen, einzelne Stammzellen aufgrund weiterer Eigenschaften zu isolieren [2].

Bis heute ist eine Stammzelle aber immer noch ausschließlich über ihre Funktion verlässlich definiert: Eine solche Zelle kann einerseits durch Teilung neue Stammzellen hervorbringen (Selbsterneuerung, »self-renewal«), ist

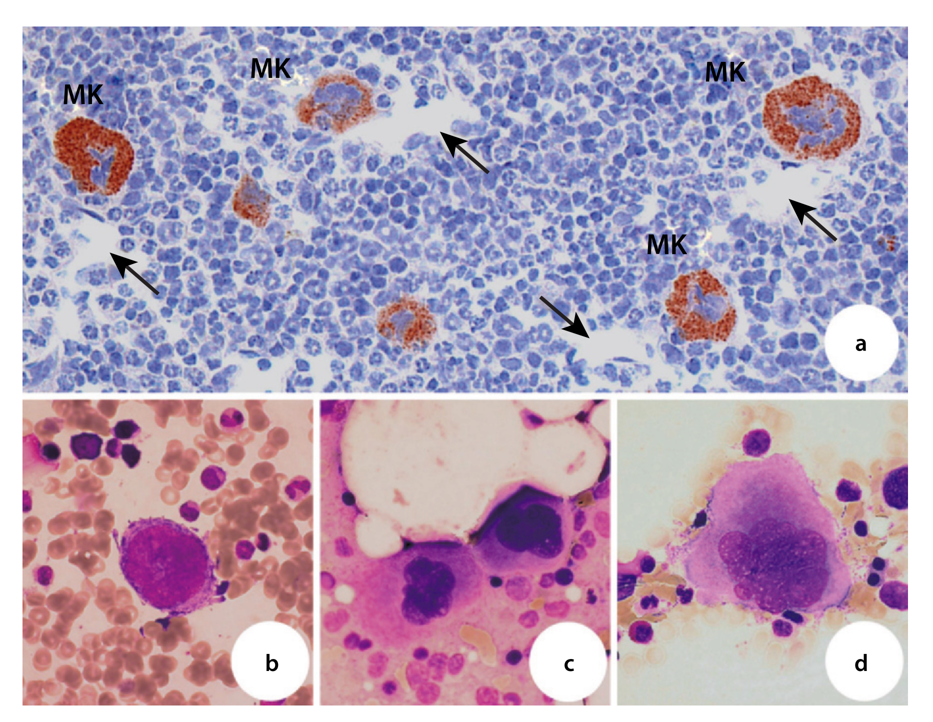



**Abb. 3.1a–d.** Megakaryozyten im Knochenmark. **a** In der Histologie ist die enge Assoziation der Megakaryozyten (*MK*, immunhistochemisch angefärbt über Antikörper gegen Thrombospondin, das in den α-Granula enthalten ist) mit den sinusoidalen Blutgefäßen des Knochenmarks (*Pfeile*) auffällig. Knochenmark der Maus; Kerngegenfärbung mit Hämatoxylin; Vergrößerung ca. 40-fach, **b–d** Entwicklung vom Megakaryoblast (**b**) zu mäßig (**c**) und stärker (**d**) polyploiden Megakaryozyten. Normales humanes Knochenmark; Zytologie gefärbt nach Pappenheim; Vergrößerung ca. 60- bis 80-fach (Aufnahme D. Schweigert, Tübingen)

aber auch zur Differenzierung in die verschiedenen hämatopoetischen Zellreihen in der Lage, verbunden mit einer erheblichen Proliferationsfähigkeit. Darüber hinaus können nur Stammzellen das Knochenmark dauerhaft (z. B. im Rahmen einer Stammzelltransplantation) repopulieren.

Die hämatopoetische Stammzelle hat ihr besonderes Mikromilieu, die »Stammzellnische«. Sie ist lokalisiert an der endostealen Grenzfläche zwischen dem Knochenmark und den Knochenbälkchen. Ihrer Aufgabe der Blutplättchenfreisetzung gemäß befinden sich Megakaryozyten allerdings in direkter Nähe zu den Knochenmarksinus, wie in Abb. 3.1 gezeigt. Zu welchem Zeitpunkt der Differenzierung Stamm- oder Vorläuferzellen die »Stammzellnische« verlassen, um die »vaskuläre Nische« aufzusuchen, ist nicht bekannt.

## 3.1.2 Liniendeterminierte Vorläuferzellen (Progenitoren)

Aus den eigentlichen Stammzellen, die zeitlich unbegrenzt eine stabile Hämatopoese aufbauen können (»long-term repopulating stem cells«), entwickeln sich über die Zwischenstufe von Stammzellen, die nur eine vorübergehende Hämatopoese vermitteln (»short-term repopulating stem cells«), schließlich die entweder in die myeloische oder lymphatische Reihe determinierten Vorläuferzellen (»common myeloid progenitors«, »common lymphoid progenitors«). Die gemeinsame myeloische Vorläuferzelle ist dabei Ausgangspunkt für Granulo-, Erythro- und Thrombozytopoese [3]. Im Mikroskop unterscheiden sich diese sowie spätere Zwischenstufen der Stamm- bzw. Vorläuferzellen kaum, ihre Morphologie mutet unreif-lymphatisch an.

Die Stammzellen sind am besten durch ihre funktionelle Fähigkeit zur Repopulierung des Knochenmarks nach Stammzelltransplantation definiert, was im humanen System experimentell natürlich nur näherungsweise durch Transplantation in immunsupprimierte Tiere, z. B. die NOD/SCID-Maus, erreicht werden kann [4]. Weiter differenzierte Vorläuferzellen kann man durch Kulturverfahren in vitro mit semisoliden Medien wie Methylzellulose anhand der sich nach etwa 1–2 Wochen entwickelnden Kolonien von reifen hämatopoetischen Zellen besser charakterisieren. Die gemeinsame myeloische Vorläuferzelle entspricht dabei in etwa einer »koloniebildenden Einheit« (»colony-forming unit«, CFU), welche Granulozyten, Erythrozyten, Makrophagen und Megakaryozyten hervorbringt (CFU-GEMM). Es gibt Hinweise, dass sich als nächste Entwicklungsstufe in Richtung der Thrombozytopoese eine gemeinsame Vorläuferzelle für die Erythropoese und Megakaryopoese entwickelt, die sich allerdings nur schwer

im semisoliden Colony-Assay als CFU-ME nachweisen lässt [3, 5, 6].

Welche Signale die Entwicklung der gemeinsamen megakaryozytären/erythozytären Progenitorzellen (MEP) in die eine oder andere Richtung lenkt, ist wenig bekannt. Möglicherweise leiten sich die MEP auch direkt von den primitiven Stammzellen ab, wie durch neuere Untersuchungen nahe gelegt wird [7]. Interessanterweise haben Erythropoese und Thrombozytopoese nicht nur eine gemeinsame Vorläuferzelle, auch wird ihre Proliferation und Differenzierung von vielen gemeinsamen Transkriptionsfaktoren kontrolliert, wie in ▶ Kap. 3.5 beschrieben.

Trotz dieser Gemeinsamkeiten unterscheiden sich weiter differenzierte Formen dieser Zellreihen erheblich, so findet man z. B. kaum gemeinsame spezifische Proteine. Genau genommen gibt es nur eine auffällige Gemeinsamkeit beider Zellreihen: Die ausdifferenzierten, zirkulierenden Zellen, d. h. Erythrozyten und Thrombozyten, sind kernlos. Doch warum sie diese Eigenschaft haben, ist immer noch unbekannt. Bei Fischen beispielsweise sind Thrombozyten kernhaltige Zellen [8]. Möglicherweise erlaubt die Kernlosigkeit eine bessere Flexibilität und günstigere rheologische Eigenschaften, die für die warmblütigen Säugetiere besonders wichtig sind.

### 3.1.3 Megakaryozytäre Progenitoren

Die megakaryozytär differenzierten Vorläuferzellen (CFU-Meg) sind schließlich durch die Ausbildung entsprechender Kolonien reifer Zellen in semisoliden, methylzellulosehaltigen Zellkulturen detektierbar und dann von den erythrozytären Vorläuferzellen gut zu unterscheiden. Die CFU-Meg proliferieren unter Anwesenheit entsprechender Zytokine, insbesondere von Thrombopoetin, und bringen schließlich die diploiden (2n) Megakaryoblasten hervor, die in vitro in der Methylzellulosekultur nach 1–2 Wochen nachweisbar sind [9]. Es ist zu vermuten, dass die Translokation von der »Stammzellnische« zur »vaskulären Nische« spätestens auf der Stufe der CFU-Meg stattfindet. Die zielgerichtete Migration wird dabei wahrscheinlich von Chemokinen gesteuert, wie in ▶ Kap. 3.4 näher ausgeführt.

Eine Megakaryopoese einschließlich entsprechender liniendifferenzierter Progenitorzellen ist in der Embryonalphase zwar bereits im Dottersack nachweisbar, jedoch zeigen die Untersuchungen an Tieren mit schweren quantitativen und qualitativen Defekten der Thrombozytopoese (z. B. NF-E2-Knockout), dass Thrombozyten nicht unbedingt für das pränatale Überleben erforderlich sind, da es erst perinatal zu schweren Hämorrhagien kommt [10]. Die megakaryozytäre Reihe in der Embryonalphase scheint auch in ihrer Biologie wesentliche Unterschiede gegenüber der postnatalen Megakaryopoese aufzuweisen [11].

## 3.2 Die Megakaryozytenreifung

### 3.2.1 Von der Vorläuferzelle zum Megakaryozyten

Der zunächst diploide Megakaryoblast bzw. spätere Megakaryozyt unterscheidet sich zunehmend von den liniendeterminierten Vorläuferzellen, insbesondere nimmt das Zellvolumen zu und der Kern bzw. das Zytoplasma nehmen die megakaryozytäre Morphologie an. Megakaryozyten sind dicht mit Ribosomen angefüllt, um die verschiedenen thrombozyten- bzw. megakaryozytenspezifischen Proteine zu synthetisieren. Beispielsweise lässt sich bereits ab dem 2n- bis 4n-Stadium der Von-Willebrand-Faktor (vWF) nachweisen, der nicht in anderen hämatopoetischen Zellen vorkommt und darüber hinaus nur noch in Endothelzellen zu finden ist. In diesem Stadium sind allerdings typische strukturelle Charakteristika für Megakaryozyten, nämlich die in ▶ Kap. 3.2.3 beschriebenen α-Granula und Demarkationsmembranen, noch nicht detektierbar [12].

Es kommt im Verlauf der frühen Megakaryopoese zur Expression weiterer spezifischer Antigene auf der Zelloberfläche, so GP IX (CD42a), das ein Heterotrimer mit GP Ib (CD42b) und GP V bildet. GP Ib ist dann später der wichtigste thrombozytäre Rezeptor für vWF, während das durchweg in der megakaryozytären Linie exprimierte Oberflächenantigen GP IIb/IIIa (CD41/CD61) als Rezeptor verschiedene Proteine, nämlich Fibrinogen, Fibronektin, Vitronektin und vWF, erkennt. Das Adhäsionsmolekül GP IIb/IIIa ist, wie für die Familie der Integrine typisch, aus einer α-Kette (GP IIb = CD41) und einer β-Kette (GP IIIa = CD61) zusammengesetzt. GP IIb (CD41) wird allerdings im Gegensatz zu GP IIIa (CD61) [13] bereits auf Progenitorzellen, insbesondere den megakaryozytär determinierten, exprimiert. Marker der späten Megakaryopoese sind z. B. GP IV oder der Thrombospondinrezeptor (CD36) [14]. Die wichtigsten spezifischen Antigene in der Megakaryopoese sind in ◘ Abb. 3.2 aufgeführt. Je nach Differenzierungsstufe von der Stammzelle bis zum Thrombozyten zeigt die Abbildung die Expression charakteristischer Proteine (auf der Zelloberfläche bzw. intrazellulär) sowie die Aktivität typischer Transkriptionsfaktoren. Zytokine und Chemokine nehmen ebenfalls zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Differenzierung Einfluss.

### 3.2.2 Die Endomitose

Das auffallendste Charakteristikum in der Thrombozytopoese ist sicherlich die Endomitose, die erst die außergewöhnliche Volumenzunahme der Megakaryozyten ermöglicht. Sie kommt nur bei Säugetieren vor, da Fische, Reptilien und Vögel kernhaltige Thrombozyten aufweisen, die

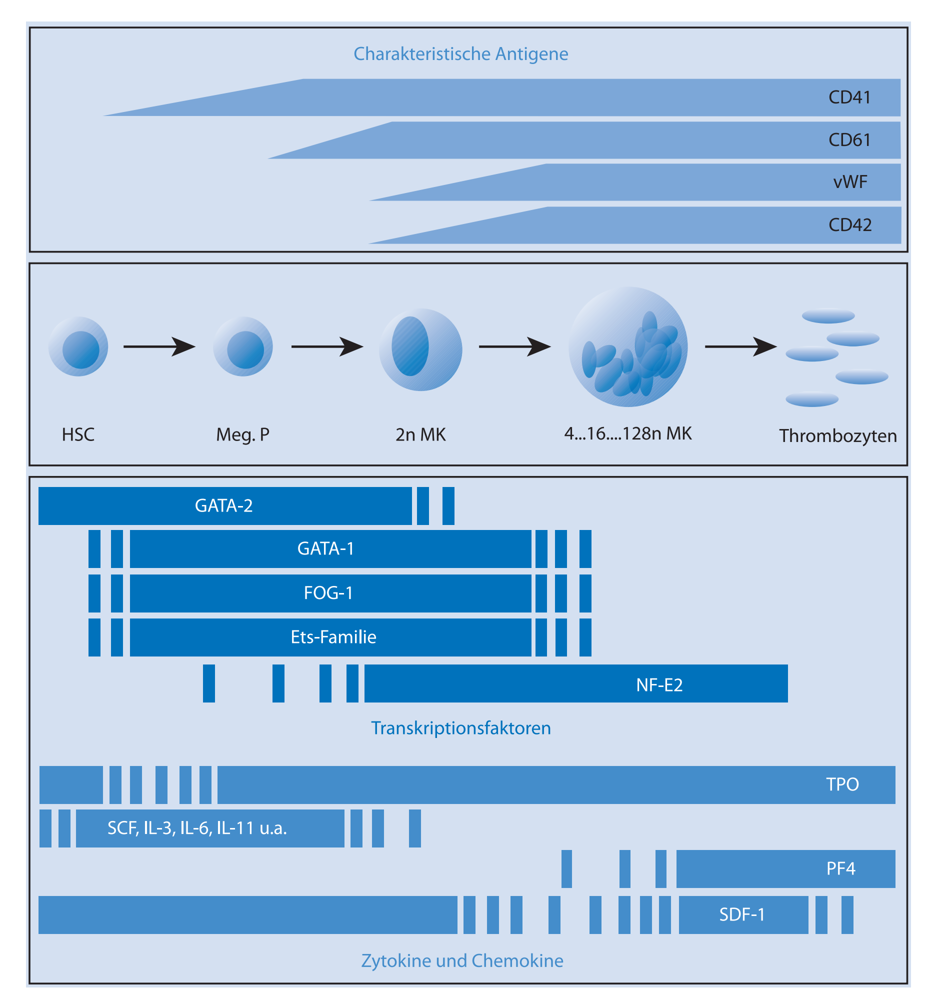



**Abb. 3.2.** Antigene, Transkriptionsfaktoren und Zytokine/Chemokine in der Megakaryopoese. *FOG-1* »friend of GATA-1«; *HSC* Stammzelle; *Meg. P* megakaryozytäre Progenitorzelle; *MK* Megakaryoblast/Megakaryozyt; *NF-E2* nukleärer Faktor E2; *PF 4* Plättchenfaktor 4; *SDF-1* »stromal cell derived factor-1«; *TPO* Thrombopoetin; *vWF* Von-Willebrand-Faktor

sich wie Granulozyten und Monozyten durch wiederholte Zellteilungen ohne Ausbildung von Megakaryozyten von den Progenitorzellen ableiten [8]. Im endomitotischen Zellzyklus wird die DNS zwar in der S-Phase repliziert, die Kernhülle wird abgebaut und es bilden sich multiple Polspindeln aus. Die Mitose wird jedoch in der Anaphase B gestoppt und die Zytokinese nicht mehr durchlaufen. Durch eine Gap-Phase wird der Wiedereintritt in die S-Phase ermöglicht, was zu einem multipel gelappten Kern mit einem DNS-Gehalt bis zu 128n pro Zelle führt [15]. Auf diese Weise ist eine vielfach höhere Transkription möglich als in diploiden Zellen, die zur Produktion der großen Mengen an Proteinen erforderlich ist, die dann auf die Thrombozyten verteilt werden.

In der Tat konnte gezeigt werden, dass in den polyploiden Zellen alle Allele, die für bestimmte megakaryozytäre Proteine kodieren, auf einmal transkriptionell aktiv sein können [16]. Es wird vermutet, dass Zyklin D3 [17], das in der G1-Phase überexprimiert wird, und Zyklin E [18] hier wichtige Regulatoren darstellen. Im normalen menschlichen Knochenmark gehören etwa die Hälfte der Megakaryozyten zur 16n-Klasse. Die Klassen 32n und höher machen rund 1/4 aus, ebenso groß ist folglich die Gruppe der Zellen bis zu 8n [19].

### 3.2.3 Granula und Membransysteme

Parallel zur Vermehrung des DNS-Gehalts durch die Endomitose kommt es auch zu Differenzierungsvorgängen innerhalb des Zytoplasmas. Ausgehend vom Golgi-Komplex entstehen *sekretorische Granula*, insbesondere die 200–500 nm großen α-Granula, in die verschiedene spezifische, insbesondere gerinnungsaktive Proteine wie vWF, Throm-

bospondin und Fibrinogen verpackt werden [20], die 200–300 nm großen *dichten Granula*, die eher kleinmolekulare Substanzen wie Serotonin, Epinephrin und ADP enthalten, sowie *Mitochondrien*. Interessanterweise stammen die Proteine, die sich in den sekretorischen Granula befinden, nicht nur von den Megakaryozyten selbst, wie etwa vWF, sondern können auch durch Pinozytose aus der Umgebung aufgenommen werden, wie im Fall von Fibrinogen [20–22].

Ein weiteres sehr bemerkenswertes Merkmal der Megakaryozytendifferenzierung ist die Entstehung eines internen Membransystems, auch als Demarkationsmembransystem (DMS) bezeichnet, das schließlich ein komplexes System von miteinander verbundenen Zisternen und Kanälen herausbildet. Es kann mit zellimpermeablen Farbstoffen wie Rutheniumrot oder Tannin angefärbt werden, was darauf hinweist, dass es sich von der äußeren Zellmembran ableitet und mit ihr in Verbindung steht [23, 24].

Zunächst glaubte man, dass das DMS Kompartimente bildet und »demarkiert«, aus denen dann die Thrombozyten nach Fragmentation des Megakaryozyten entstehen [25]. Heute wird, wie in ► Kap. 3.5 beschrieben, meist die Vorstellung favorisiert, dass das DMS einen Membranvorrat für die rasche Ausstülpung der Prothrombozyten bereithält, die als pseudopodienartige Gebilde der Plättchenfreisetzung dienen [26]. Die Bezeichnung Demarkationsmembransystem könnte also irreführend sein, manche Autoren sprechen lieber von einem »Invaginationsmembransystem« [26, 27].

Zusätzlich wird ein offenes kanalikuläres System (OCS) herausgebildet [28]. Es dient später der kanalisierten Freisetzung der Granula bzw. ihrer Inhaltsstoffe. Dieses System, zusammen mit den in Granula verpackten sekretorischen Proteinen, erlaubt später nach Stimulation der Thrombozyten eine extrem schnelle Sekretion u. a. von Gerinnungsfaktoren, was für die hämostatische Funktion elementar wichtig ist. Im Gegensatz dazu werden Proteine, die später als Rezeptoren auf der Zelloberfläche der Thrombozyten dienen, nach der Synthese direkt zur Oberfläche des Megakaryozyten transferiert, so z. B. die Rezeptoren für vWF und Fibrinogen.

Des Weiteren enthalten Megakaryozyten ein sogenanntes dichtes tubuläres System (DTS), [29] das allerdings im Gegensatz zu dem DMS und OCS nicht mit der Umgebung kommuniziert und später als Speicher für Kalziumionen und Ort der Prostaglandinsynthese in den Thrombozyten fungiert [30]. Megakaryozyten produzieren auch verschiedene angiogene Faktoren, so z. B. »vascular endothelial growth factor« VEGF [31], die dann ebenfalls auf die Blutplättchen verteilt werden und überwiegend in den α-Granula zu finden sind, wo sie nach Aktivierung freigesetzt werden können. Auf diese Weise leiten die sich an Gefäßläsionen anlagernden Thrombozyten bereits die ersten Schritte zur Regeneration der Blutgefäße ein.

## 3.3 Die Freisetzung der Thrombozyten in die Zirkulation

### 3.3.1 Theorien über die Plättchenfreisetzung: Eine 100-jährige Geschichte mit offenem Ende

Vor etwa 100 Jahren erstmals postuliert und beschrieben, ging man schon vor langer Zeit davon aus, dass Thrombozyten von pseudopodienartigen Fortsätzen der reifen Megakaryozyten abgeschnürt und so in die Zirkulation freigesetzt werden [32]. Mit der Entdeckung des DMS erschien es dann aber viel wahrscheinlicher, dass die Thrombozyten in den Zonen des DMS präformiert werden und schließlich durch abrupte Fragmentation freigesetzt werden. Als schließlich Mitte der 1990er-Jahre Thrombopoetin entdeckt und kloniert wurde, konnte man die Reifungsprozesse der Megakaryozyten einschließlich der Freisetzung plättchenähnlicher Partikel in vitro viel besser studieren. Hier wurde die bereits zuvor in vivo beschriebene Beobachtung [33–35] bestätigt, dass reife Megakaryozyten lange, verzweigte Fortsätze, die sogenannten Prothrombozyten (»proplatelets«) ausbilden, an deren oft multiplen Enden sich die Thrombozyten bilden. So erlebte die ursprüngliche Theorie einer Freisetzung von Plättchen über pseudopodienartige Membranausstülpungen wieder eine Renaissance [36–38]. Allerdings muss an dieser Stelle gesagt werden, dass auch heute von manchen Autoren die Prothrombozyten – überspitzt formuliert – immer noch als Kulturartefakte in vitro gewertet werden [39].

### 3.3.2 Das »Flussmodell« bzw. die Prothrombozytentheorie

Das »Flussmodell« der Plättchenentstehung [40] besagt, dass die Thrombozyten entlang pseudopodienartiger Fortsätze (eben den oben erwähnten Prothrombozyten) freigesetzt werden, welche durch ein »Herausfließen« des im DMS gespeicherten Membranvorrats sozusagen aus den Megakaryozyten hervorquellen. Hier liegt nämlich das entscheidende Problem bei der Umwandlung vom einzelnen Megakaryozyten in viele Tausende von Thrombozyten: Neben einer Neuorganisation des Zytoskeletts muss sich die Zelloberfläche massiv vergrößern. Dieses kann nicht durch eine Ad-hoc-Entstehung großer Zellmembranflächen, sondern nur durch bereits »auf Vorrat« produzierte Membranen schnell genug vor sich gehen.

Insbesondere unter dem Einfluss des thrombozytopoetischen Wachstumsfaktors Thrombopoetin lässt sich die Bildung der Prothrombozyten bis hin zur Plättchenbildung direkt in vitro beobachten [41–45]. Diese haben die gleiche Struktur wie diejenigen, die nach den Berichten mancher

Autoren in vivo in die Knochenmarksinus und somit in den Blutstrom hineinragen [33–35]. Ebenso ähneln die in vitro unter dem Einfluss von TPO generierten Plättchen den Thrombozyten in vivo, was ihre Struktur und Funktion angeht [44, 45]. Die Tatsache, dass Megakaryozyten in Suspensionskultur Prothrombozyten ohne Kontakt zum Stroma ausbilden können, weist darauf hin, dass die Prothrombozyten- und Plättchenbildung eine autonome Funktion der Megakaryozyten darstellt [46].

Die Bildung von Prothrombozyten in vitro beginnt an einer Seite des Megakaryozyten zunächst in Form einer oder mehrerer, zunächst breiter Pseudopodien. Innerhalb einiger Stunden verjüngen und strecken sich die Fortsätze weiter, bis sie schließlich 1/2 oder sogar mehrere Millimeter lang sind und Verzweigungen sowie Verdickungen in Größe der zukünftigen Thrombozyten aufweisen. Gegen Ende dieses Vorgangs ist schließlich das gesamte Zytoplasma des Megakaryozyten aufgebraucht. Oft ergibt sich das Bild von vielen, mit dünnen Zytoplasmabrücken wie an einer Kette verbundenen Auftreibungen, wobei nur an den Enden der Prothrombozyten Plättchen freigesetzt werden, die aber infolge der Verzweigungen zahlreich sein können [43]. Der multilobuläre Kern endet als komprimierte Masse, die kaum noch Zytoplasmareste aufweist, und wird ausgestoßen.

Um auf die hohe Zahl von mehreren tausend von einem Megakaryozyten generierten Plättchen [47–49] zu kommen, entwickeln die nur 5–10 Prothrombozyten durch Bildung zunächst von Knicken, dann von haarnadelartigen Schleifen und schließlich durch Verschmelzung immer wieder neue Verzweigungen, an deren Enden Thrombozyten entstehen. Über welchen Mechanismus kann aber ein Megakaryozyt in kurzer Zeit derartige Fortsätze ausbilden und aktiv vortreiben?

Offensichtlich spielen hier die Mikrotubuli eine entscheidende Rolle. Zunächst werden diese – wie bei vielen anderen Zellen auch – beim Megakaryozyt vom Zentrosom ausgehend gebildet und als sternförmiges Feld angeordnet. Kurz bevor sich Prothrombozyten ausbilden, verlagern sie sich jedoch in die Zellperipherie parallel zur Oberfläche, wie in ◘ Abb. 3.3 dargestellt. Bei der Ausbildung von Prothrombozyten gleiten die dort gebündelt vorliegenden Mikrotubuli [43, 50, 51], wahrscheinlich angetrieben durch das Motorprotein Dynein [52], wie eine Feuerwehrleiter auseinander und treiben so die Verlängerung der Fortsätze vorwärts. Doch nicht nur dies: Auch werden die für die Bildung von Plättchen erforderlichen Organellen und Granula mithilfe von Motorproteinen entlang der Mikrotubuli innerhalb der Prothrombozyten in die Spitzen befördert [40, 43, 53].

Die Knickbildung hingegen, die zur Ausbildung von Verzweigungen führt, wird durch einen anderen Bestandteil des Zytoskeletts, das Aktin, bewerkstelligt, das dort und in den Auftreibungen, an denen sich Knicke ausbilden können, besonders reichlich vorkommt [43, 53]. Nur durch ein Zusammenspiel von Zytoskelett, motorischen Proteinen und verschiedenen Zellbestandteilen kann der komplizierte Vorgang der Plättchenfreisetzung gemäß der Prothrombozytentheorie erklärt werden.

Eine exakte Charakterisierung der Ablösung der Plättchen von der Spitze der Prothrombozyten ist auch heute weder in vivo noch in vitro möglich. Gegen Ende seiner Lebenszeit, zumindest in den In-vitro-Systemen, hat sich der Megakaryozyt schließlich vollständig aufgelöst, neben dem Kernrest finden sich insbesondere hantelförmige Reste der Prothrombozyten, an deren Enden weiter Plättchen freigesetzt werden, bis die Prothrombozyten vollständig aufgebraucht sind.

### 3.3.3 Die Fragmentierungstheorie und potenzielle Thrombozytenfreisetzung in der Lunge

Auch wegen der noch ungeklärten Vorgänge in der Endphase der Thrombozytenfreisetzung ist die »Fragmentierungstheorie« aber noch nicht ad acta gelegt. Wahrscheinlich spielt beides – sowohl eine gewisse Fragmentierung von in den DMS-Zonen präformierten Thrombozyten als auch die Ausbildung von Fortsätzen, gebildet aus den intrazellulären Membranen des DMS – eine Rolle. Man könnte sich dabei vorstellen, dass insbesondere unter Zuständen mit erhöhtem Plättchenverbrauch eine Fragmentierung von reifen Megakaryozyten schneller und effektiver abläuft als die Ausbildung von Prothrombozyten.

Wenn reife Megakaryozyten mit subendothelialer extrazellulärer Matrix kultiviert werden, lässt sich in der Tat eine hocheffektive, »explosive« Fragmentation des gesamten Zytoplasmas nachweisen [54, 55]. Auch neuere Beobachtungen in und ex vivo unterstützen die Theorie einer »explosiven« Fragmentierung [39]. Hier besteht allerdings das Dilemma, dass die Thrombozyten selbst keine migratorische Aktivität entfalten und größtenteils im Knochenmark liegen bleiben würden. Entgegen früherer Auffassung sind aber große Megakaryozyten durchaus zur Migration fähig und können das Knochenmark verlassen [56], insbesondere kennt man heute auch Chemokine, die eine Migration dieser Zellen verursachen, beispielsweise SDF-1 (»stromal cell derived factor-1«) [57].

Interessanterweise bewirkt SDF-1 normalerweise eine zum Knochenmark(stroma) gerichtete Migration, jedoch kann sich dieser Chemokingradient unter Stressbedingungen für die Hämatopoese, z. B. Stimulation mit Wachstumsfaktoren, reduzieren oder gar umkehren [58]. Dies könnte zu einer Mobilisierung nicht nur von Stammzellen, sondern auch von Megakaryozyten in die Zirkulation füh-

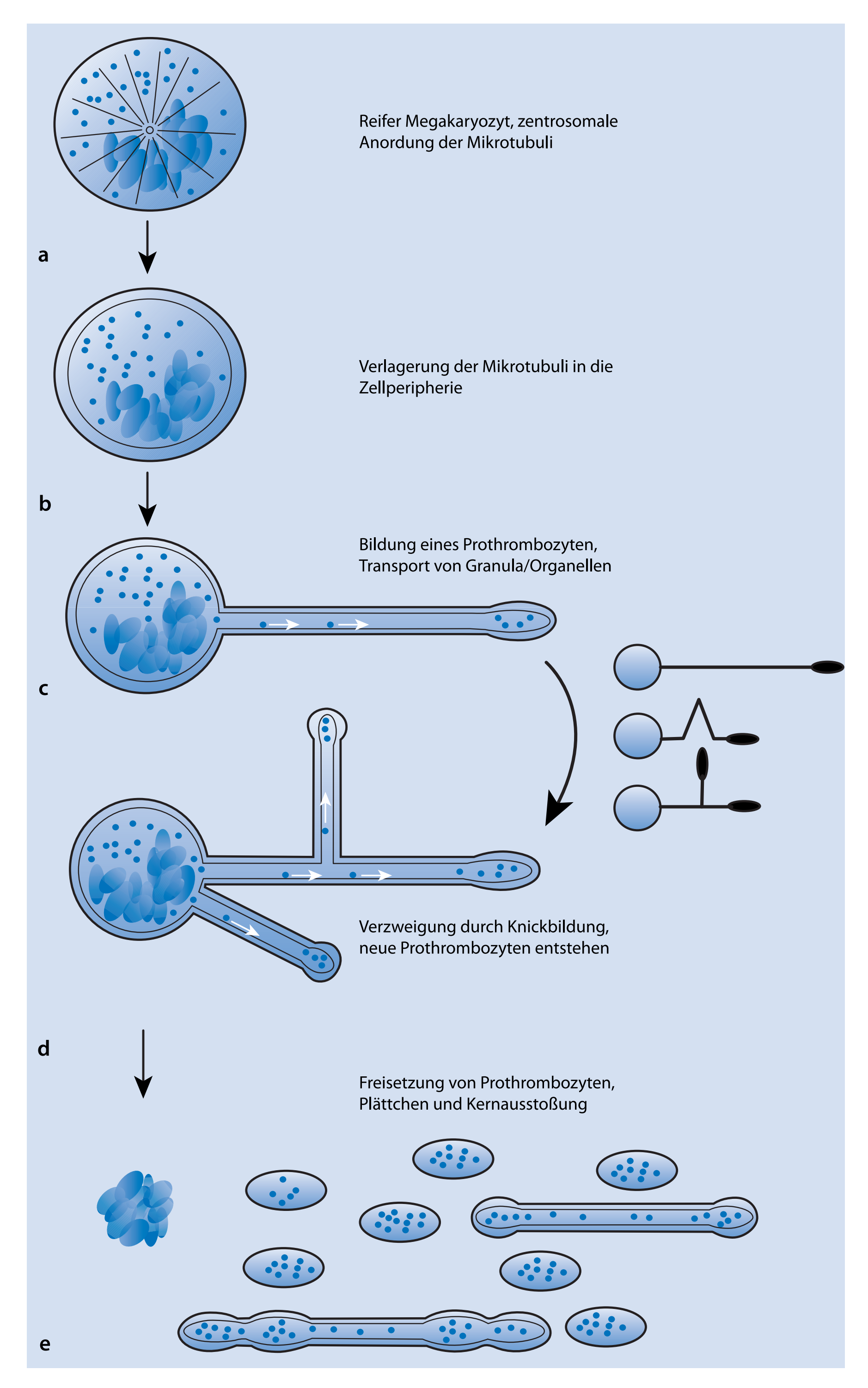



**Abb. 3.3.** Die Plättchenfreisetzung gemäß der Prothrombozytentheorie. Beim reifen Megakaryozyt (**a**) geht die Umordnung der zunächst als radiäres Feld angeordneten Mikrotubuli parallel zur Oberfläche (**b**) der Prothrombozytenbildung (**c**) voraus. Granula und Organellen werden entlang der Mikrotubuli zur Spitze des Prothrombozyten, dem Ort der Plättchenentstehung, transportiert. Neben fortgesetzter Neubildung von Prothrombozyten entstehen durch Retraktion mit Knickbildung Verzweigungen (**d**). Schließlich geht die ganze Megakaryozytenmasse in Prothrombozyten und neugebildete Plättchen auf, der Kern wird nahezu zytoplasmafrei ausgestoßen (**e**)

ren. Die Fragmentierung in Thrombozyten erfolgt dann »mechanisch« an den Verzweigungen des ersten Kapillarbetts, auf das die zirkulierenden Megakaryozyten treffen, also in der Lunge.

In der Tat findet man gerade unter Bedingungen, die Stress für die Thrombozytopoese bedeuten, gehäuft Megakaryozyten in der Lunge, nie aber in anderen Organen. Ebenso wurden Megakaryozyten schon vor längerer Zeit im Blut quantifiziert; z. B. fanden Levine et al. zehnfach mehr intakte Megakaryozyten im pulmonalarteriellen Blut verglichen mit Proben aus der Aorta [59]. Möglicherweise werden aber auch Teile des Megakaryozyten bzw. Prothrombozyten in die Zirkulation entlassen, die sich dann in der Lunge zu einzelnen Plättchen weiterentwickeln.

Welchen Anteil eine Plättchenfreisetzung in der Lunge an der gesamten Thrombozytenbildung hat und ob dieser bei erhöhtem Thrombozytenumsatz ansteigt, ist nicht genau bekannt. Initial wurde sogar aufgrund mathematischer Modelle spekuliert, dass allein die physikalische Fragmentation in der Lungenstrombahn für die gesamte Thrombozytenfreisetzung verantwortlich ist [60]. Wahrscheinlich spielt sie aber eher eine untergeordnete Rolle, da man selbst bei stimulierter Thrombopoese zumindest in der Maus viel mehr nackte Megakaryozytenkerne im Knochenmark als in der Lunge findet [61].

Mehrere Beobachtungen allerdings sprechen dafür, dass weder das Knochenmarkmikromilieu noch das Lungenkapillarbett unabdinglich für die Thrombozytopoese sind: Eine extramedulläre Hämatopoese, wie sie unter pathologischen Umständen z. B. bei einer Knochenmarkfibrose auftritt, beinhaltet eine effektive Megakaryopoese [62], und die Entstehung von Thrombozyten ist auch in vitro möglich [44].

### 3.3.4 Thrombozytenfreisetzung: Eine Form der Apoptose?

Alle Ansichten zur Freisetzung der Plättchen haben eines gemeinsam: Sie sind mit dem Untergang des Megakaryozyten verbunden. Auch weisen in vitro aus Progenitorzellen generierte Megakaryozyten Merkmale der Apoptose auf [63]. Es wurde daher schon oft spekuliert, ob die Plättchenfreisetzung über Prothrombozyten Parallelen zur Apoptose aufweist. In der Tat konnte z. B. gezeigt werden, dass die Aktivierung von Caspasen bei der Thrombozytenfreisetzung eine Rolle spielt [64]. Unklar ist allerdings, welche Teile des programmierten Zelltods aktiviert werden und wie gesichert wird, dass die Viabilität der freigesetzten Thrombozyten einschließlich ihrer Organellen, z. B. der Mitochondrien, gewährleistet bleibt.

## 3.4 Regulation der Thrombozytopoese: Zytokine und Chemokine

### 3.4.1 Hämatopoetische Wachstumsfaktoren und andere Zytokine: Die Suche nach dem Thrombopoetin

Bereits seit vielen Jahren ist bekannt, dass im Plasma bei Patienten mit Thrombopenie eine Aktivität vorhanden ist, die das Wachstum von Megakaryozyten in vitro stimuliert bzw. zur Thrombozytenbildung in vivo führt und deswegen vor etwa 50 Jahren erstmals als »Thrombopoetin« (TPO) bezeichnet wurde [65]. Seit den 1980er-Jahren wurden nach und nach die verschiedenen Wachstumsfaktoren der Hämatopoese identifiziert, und man stellte fest, dass mehrere von ihnen auch eine Wirkung auf die Thrombopoese haben: So stimulieren GM-CSF (»granulocyte/macrophage-colony stimulationg factor«), die Interleukine Il-3, Il-6, Il-11, Il-12 sowie EPO die megakaryozytären Progenitoren [66]. Keiner dieser Faktoren besitzt allerdings eine überwiegende, geschweige denn spezifische Wirkung auf die frühe Megakaryopoese.

Zusätzlich gibt es auch Zytokine, die die späte Thrombozytopoese (also Megakaryozytenreifung und Plättchenfreisetzung) modulieren, so Interleukin-1α und LIF (»leucaemia inhibitory factor«) [66, 67]. Auch diese sind aber keineswegs spezifisch für diese Zellreihe. Chemokine sind Zytokine mit chemotaktischer Wirkung und beeinflussen zusätzlich die Megakaryozytenentwicklung und Plättchenfreisetzung, insbesondere CXCL12 (»stromal cell derived Factor-1, SDF-1«) und CXCL4 (Plättchenfaktor 4, PF4). Über viele Jahre wurde daher diskutiert, ob »Thrombopoetin« die kombinierte Wirkung verschiedener hämatopoetischer Wachstumsfaktoren darstellt oder ob es ähnlich dem Erythropoetin für die rote Zellreihe doch noch einen nicht identifizierten, spezifischen Wachstumsfaktor für die Megakaryopoese gibt [68].

Mitte der 1990er-Jahre schließlich wurde der Rezeptor c-Mpl und sein Ligand Thrombopoetin entdeckt und kloniert. Dies war allerdings nicht Ergebnis einer gezielten Suche. Stattdessen gelangte man Anfang der 1990er-Jahre über das zuerst entdeckte virale Onkogen v-Mpl des »murine myeloproliferative leukemia virus« [69] zu dem entsprechenden zellulären Protoonkogen c-Mpl [70], dessen präferentielle Wirkung auf die Thrombozytopoese [71] schließlich dazu führte, dass man mit seinem Liganden das lange postulierte Thrombopoetin gefunden hatte [72–75].

Auch andere wichtige hämatopoetische Wachstumsfaktoren waren schon in gleicher Weise als Liganden für ehemals über virale Protoonkogene identifizierte Rezeptoren entdeckt worden, so z. B. der Stammzellfaktor (SCF) als Ligand für c-kit. Die Einwirkung verschiedener Zyto-/Che-

mokine zu unterschiedlichen Zeitpunkten in der Megakaryo- bzw. Thrombozytopoese sind in Abb. 3.2 dargestellt.

### 3.4.2 Thrombopoetin (TPO) und c-Mpl

Erwartungsgemäß reduziert ein Knockout von c-Mpl oder Thrombopoetin in vivo die Thrombozytenzahl erheblich, allerdings nicht auf vital bedrohliche Werte [76–78]. Offensichtlich hat TPO bzw. c-Mpl eine sehr wichtige Regulierungsfunktion, ist aber nicht essenziell für die Thrombozytopoese. TPO ist nicht nur ein megakaryozytärer Wachstumsfaktor – selbst reife Thrombozyten exprimieren c-Mpl und reagieren auf TPO mit verstärkter thrombininduzierter Aggregation und Freisetzung von α-Granula [79]. Thrombopoetin weist in seiner N-terminalen Hälfte eine hohe Homologie zu Erythropoetin auf. Auch die Signalübertragung von c-Mpl und dem EPO-Rezeptor zeigt Gemeinsamkeiten, z. B. die Assoziation des Rezeptors mit der Januskinase JAK2 und die wichtige Bedeutung der PI3-Kinase im Signalweg [80]. Allerdings gibt es in der Wirkung von TPO eine entscheidende Besonderheit: Es wirkt nicht nur auf liniendifferenzierte Zellen, also in diesem Fall auf megakaryozytäre Progenitoren bzw. Megakaryozyten, sondern – anders als EPO – auch als Wachstumsfaktor für pluripotente Progenitoren und Stammzellen [76, 77, 81].

Teleologisch betrachtet ist dies für die Hämatopoese unter pathologischen Umständen sehr bedeutsam, da die Thrombozytenzahl sehr viel schneller auf toxische Einflüsse reagiert als der Hämoglobinwert bzw. die Erythrozyten mit ihrer viel längeren Lebensdauer. Eine Thrombozytopenie bei toxischer Knochenmarkschädigung muss deswegen zu einer möglichst effizienten Steigerung der Thrombozytenbildung führen. Das erreicht der Organismus durch den Effekt von TPO nicht nur auf die megakaryozytäre Zelllinie, sondern auch auf frühe Progenitoren und Stammzellen, wobei ein Mangel an Thrombozyten direkt zu einer Erhöhung des Thrombopoetinspiegels führt.

### 3.4.3 Regulation der Thrombozytopoese durch Thrombopoetin und c-Mpl

In der Tat wird der Thrombopoetinspiegel negativ reguliert durch die Bindung an seinen Rezeptor c-Mpl, der auf zirkulierenden Thrombozyten und Megakaryozyten exprimiert wird, denn rezeptorgebundenes TPO wird rasch eliminiert. Die im Köper vorhandene Gesamtmasse an Thrombozyten und Megakaryozyten korreliert somit negativ mit dem Thrombopoetinspiegel [82]. Dies kann auch eine gelegentlich beobachtete verzögerte Erholung der Plättchen nach Chemotherapie und Thrombozytentransfusion erklären [83]. Die Regulation eines hämatopoetischen Wachstumsfaktors durch die von der Anzahl der reifen Zellen bestimmte Menge des jeweiligen Rezeptors ist als grundsätzliches Prinzip in der Hämatopoese in verschiedenen Zellreihen verwirklicht – so auch in der Abhängigkeit des Spiegels von G-CSF (»granulocyte-colony stimulating factor«), dem Wachstumsfaktor für Granulozyten, von der Neutrophilenzahl im peripheren Blut.

Umso überraschender war die Beobachtung, dass im Gegensatz zu anderen Thrombozytopenien bei der Immunthrombopenie (ITP), die mit extrem niedrigen Thrombozytenzahlen einhergehen kann, oft keine wesentlich erhöhten TPO-Spiegel zu finden sind. Dies lässt sich dadurch erklären, dass bei der negativen Regulation des TPO-Spiegels nicht nur die zirkulierenden Thrombozyten, sondern auch die Gesamtmenge der reifen Megakaryozyten, die ebenfalls c-Mpl exprimieren, mitbeteiligt ist. Die Megakaryozytenmasse ist bei der Immunthrombopenie in der Regel deutlich gesteigert [84], sodass hier keine erhöhten TPO-Spiegel beobachtet werden. Eine zusätzliche Rolle spielt auch der stark erhöhte Umsatz der Thrombozyten. Bei der ITP könnte somit, obwohl paradox erscheinend, eine Gabe von c-Mpl-Agonisten Erfolg versprechend sein, wofür auch die bisherigen klinischen Daten sprechen [85].

Der negative Feedback-Mechanismus ist zwar der hauptsächliche, aber nicht alleinige Regulator des TPO-Spiegels. Bei der Entzündungsreaktion z. B. kommt es zu einem »inadäquaten«, durch Il-6 induzierten Anstieg des Thrombopoetins, der Ursache für die dabei beobachtete Thrombozytose ist [86]. So wie Erythropoetin in der Niere, wird die Hauptmenge des Thrombopoetins in der Leber produziert [87], wobei auch alternative Bildungsstätten, z. B. die Stromazellen im Knochenmark, existieren [88].

Es gibt Hinweise, dass die bei Leberzirrhose gefundene, oft erhebliche Thrombopenie nicht nur Ausdruck einer verstärkten Sequestration bzw. eines Pooling in der durch die portale Hypertension vergrößerten Milz ist, sondern auch im Sinne einer eingeschränkten Thrombopoetinsyntheseleistung der Leber zu verstehen ist. Es besteht hier allerdings keine sichere Korrelation mit dem Thrombopoetinspiegel, der ohnehin eine große natürliche Variabilität aufweist. Der rapide Anstieg von Thrombopoetinspiegel und Thrombozytenzahlen nach Lebertransplantation, auch wenn keine gleichzeitige Splenektomie erfolgt, weist darauf hin, dass in der Tat ein Mangel an Thrombopoetin und zumindest nicht allein der Hypersplenismus für die Thrombopenie bei Leberzirrhose verantwortlich sind [89].

### 3.4.4 Chemokine

Das Chemokin CXCL12 (»stromal cell derived factor-1«, SDF-1), das eine bedeutende Rolle für das Homing hämatopoetischer Stammzellen zum Knochenmark spielt, ist offensichtlich auch für die Thrombozytopoese wichtig. Allerdings steht dabei weniger ein Effekt auf die Proliferation, sondern auf die Migration megakaryozytärer Zellen im Vordergrund. Wie bereits erwähnt, sind SDF-1 und sein Rezeptor CXCR4 an der Migration der Progenitoren aus der endostealen »Stammzellnische« zur »vaskulären Nische« beteiligt, wo die Megakaryozyten heranreifen [90]. Dies geschieht im Zusammenspiel mit dem Fibroblasten-Wachstumsfaktor-4 (FGF-4). Interessanterweise kann dabei die Gabe von SDF-1 im Tierexperiment den Knockout von TPO bzw. c-Mpl überspielen und die Thrombozytenzahlen normalisieren [90]. Während SDF-1 also die Plättchenfreisetzung fördert, vermittelt FGF-4 eine feste Adhäsion an das Knochenmarkendothel.

Plättchenfaktor 4 (PF4, CXCL4) ist ein Chemokin, dessen Rezeptor noch nicht charakterisiert ist. PF4 wird in den α-Granula der Megakaryozten in hoher Konzentration gespeichert, hemmt aber selbst die Megakaryopoese und möglicherweise auch die Plättchenfreisetzung [91]. Untersuchungen an PF4-Knockout oder PF4 überexprimierenden Mäusen zeigen beispielsweise, dass der Gehalt an PF4 in den Plättchen negativ mit der Thrombozytenzahl korreliert [92]. PF4 stellt somit einen negativen, autokrinen Regulator der Thrombozytopoese dar.

Aus der Regelungstechnik ist bekannt, dass solche negativ rückgekoppelten Systeme Schwankungen dämpfen können, und gerade die Thrombozytenzahlen können rapiden Veränderungen unterworfen sein. Ein weiteres thrombozytenspezifisches Chemokin, CXCL7, auch als Plättchen-basisches-Protein (PBP) bekannt, übt eine ähnliche, negativ rückgekoppelte Regulation aus. Andere, allerdings weit weniger thrombozytenspezifische Chemokine, werden meist ebenfalls in den α-Granula gespeichert und üben eine negativ regulatorische autokrine Wirkung aus, etwa CCL3 (MIP-1α ), CCL5 (RANTES), CXCL5 (ENA-78) und CXCL8 (Interleukin-8) [93–95].

## 3.5 Transkriptionsfaktoren in der Thrombozytopoese

### 3.5.1 Transkriptionsfaktoren kontrollieren die megakaryozytäre Differenzierung und ihre Scheidewege: GATA-1, FOG-1, GATA-2 und PU.1

Die Hämatopoese wird zwar von humoralen und parakrinen Faktoren sowie Zell-Zell- bzw. Zell-Matrix-Interaktionen reguliert, jedoch erfolgt die direkte Kontrolle der Aktivierung bestimmter Gene in der Zelle durch die sogenannten Transkriptionsfaktoren. Es handelt sich dabei um Proteine, die in der Regel direkt mit der DNS interagieren können um die Transkription zell- bzw. gewebetypischer Gene herauf- oder herunterzuregulieren. Für die Hämatopoese gibt es spezifische Transkriptionsfaktoren, manche sind sogar nur in bestimmten Zellreihen aktiv.

Der wichtigste Transkriptionsfaktor, der die Hämatopoese auf der Ebene der Stammzellen und pluripotenten Progenitoren kontrolliert, ist GATA-2 [96]. Über sogenannte »Zinkfinger« (zinkhaltige Anteile des Proteins) tritt GATA-2 mit der DNS in Kontakt und vermittelt letztendlich Proliferation und Überleben der Stamm- bzw. Progenitorzellen. Ein wichtiger Punkt in der weiteren Entwicklung hin zu den reifen Blutzellen ist die Trennung der megakaryozytären und erythrozytären Zellreihe von der Granulopoese, die sich auf der Ebene der liniendeterminierten Vorläuferzellen abspielt.

Entscheidend sind hier 2 antagonistische Transkriptionsfaktoren, die sich jeweils gegenseitig unterdrücken: GATA-1 and PU.1 [97]. Während GATA-1 die Entwicklung und Liniendeterminierung sowohl bei den megakaryozytären als auch den erythrozytären Progenitoren reguliert [98], steht die Granulopoese unter der Kontrolle von PU.1 [99]. In der Tat ist die gemeinsame Progenitorzelle (MEP) durch die Herunterregulierung von PU.1 als erstes Ereignis auf Ebene der Transkriptionsfaktoren charakterisiert. GATA-1, in Kombination mit FOG-1 (»friend of GATA-1«) [100], reguliert die weitere Entwicklung sowohl der megakaryozytären als auch der roten Zellreihe.

Durch linienspezifisches Knockout von GATA-1 in der Megakaryopoese konnte die kritische Rolle dieses Transkriptionsfaktors nachgewiesen werden [101]. Im Knochenmark der thrombopenen Tiere sammelten sich kleine, unreife Megakaryozyten an, die eine geringere Polyploidie, verminderte Granula, ein unterentwickeltes DMS und vermehrtes rauhes endoplasmatisches Retikulum aufwiesen.

In der Tat führen auch beim Menschen Mutationen des »Zinkfingers« von GATA-1, der mit FOG interagiert, zu einer Thrombozytopenie [102]. Allerdings bleibt eine basale Thrombopoese auch bei Fehlen von GATA-1 erhalten,

da der Einfluss von GATA-2 in gewissem Ausmaß in die Megakaryopoese hereinreicht. In welche der beiden Zellreihen sich schließlich die gemeinsame Vorläuferzelle der Megakaryopoese und Erythropoese entwickelt, hängt von der Einwirkung spezifischer Wachstumsfaktoren, insbesondere Thrombopoetin und Erythropoetin, ab. Allerdings finden sich auf Ebene der Transkriptionsfaktoren keine entsprechenden 2 Faktoren, die in gleicher Weise wie das oben erwähnte antagonistische Paar GATA-1/PU.1 die Differenzierung in die eine oder andere Richtung lenken würden. GATA-1 ist in beiden Zellreihen aktiv und interagiert auch mit anderen Transkriptionsfaktoren; hier scheinen Mitglieder der sogenannten ETS-Familie eine wichtige Rolle insbesondere für die Megakaryopoese zu spielen [103].

### 3.5.2 NF-E2: Ein Transkriptionsfaktor der späten Thrombozytopoese

Das wichtigste Ereignis in der fortgeschrittenen Megakaryopoese, nämlich die Freisetzung der Thrombozyten, wird von einem weiteren Transkriptionsfaktor, nämlich von dem nukleären Faktor E2 (NF-E2) kontrolliert, der somit zu einem späteren Zeitpunkt die Megakaryopoese reguliert als GATA-1. In der NF-E2-Knockout-Maus ist die Thrombozytopenie so ausgeprägt, dass zirkulierende Plättchen vollständig fehlen und die Tiere infolge von Blutungen während der Geburt meist versterben [10]. Im Gegensatz zum GATA-1-Knockout scheinen sich die Megakaryozyten normal zu entwickeln, können aber keine Prothrombozyten ausbilden [46]. Möglicherweise liegen hier Beeinträchtigungen des Zytoskeletts vor (Störung des β-Tubulins) [104] oder es spielt die Inhibierung anderer signalübertragender Moleküle eine Rolle, da NF-E2 beispielsweise mit dem Promotor von RAB27b, einer kleinen GTPase, die in Thrombozyten vorkommt, interagiert [105].

Nach ihrer Freisetzung aus den Megakaryozyten stehen die Thrombozyten selbst als kernlose Zellen selbstverständlich nicht mehr unter dem Einfluss von Transkriptionsfaktoren. Ihre Funktion wird fast ausschließlich von der Aktivität verschiedener Rezeptoren auf der Zelloberfläche reguliert.

## Literatur


[1] Ogawa M (1993) Differentiation and proliferation of hematopoietic stem cells. Blood 81: 2844–2853
[2] Weissman IL, Anderson DJ, Gage F (2001) Stem and progenitor cells: origins, phenotypes, lineage commitments, and transdifferentiations. Annu Rev Cell Dev Biol 17: 387–403
[3] Akashi K, Traver D, Miyamoto T et al. (2000) A clonogenic common myeloid progenitor that gives rise to all myeloid lineages. Nature 404: 193–197
[4] Larochelle A, Vormoor J, Hanenberg H et al. (1996) Identification of primitive human hematopoietic cells capable of repopulating NOD/SCID mouse bone marrow: implications for gene therapy. Nat Med 2: 1329–1337
[5] Kanz L, Straub G, Bross KG et al. (1982) Identification of human megakaryocytes derived from pure megakaryocytic colonies (CFU-M), megakaryocytic-erythroid colonies (CFU-M/E), and mixed hemopoietic colonies (CFU-GEMM) by antibodies against platelet associated antigens. Blut 45: 267–274
[6] Nakahata T, Gross AJ, Ogawa M (1982) A stochastic model of self-renewal and commitment to differentiation of the primitive hemopoietic stem cells in culture. J Cell Physiol 113: 455–458
[7] Adolfsson J, Mansson R, Buza-Vidas N et al. (2005) Identification of $Flt^{3+}$ lympho-myeloid stem cells lacking erythro-megakaryocytic potential a revised road map for adult blood lineage commitment. Cell 121: 295–306
[8] Jagadeeswaran P, Sheehan JP, Craig FE et al. (1999) Identification and characterization of zebrafish thrombocytes. Br J Haematol. 107: 731–738
[9] Nakorn TN, Miyamoto T, Weissman IL (2003) Characterization of mouse clonogenic megakaryocyte progenitors. Proc Natl Acad Sci USA 100: 205–210
[10] Shivdasani RA, Rosenblatt MF, Zucker-Franklin D et al. (1995) Transcription factor NF-E2 is required for platelet formation independent of the actions of thrombopoietin/MGDF in megakaryocyte development. Cell 81: 695–704
[11] Palis J, Koniski A (2005) Analysis of hematopoietic progenitors in the mouse embryo. Methods Mol Med 105: 289–302
[12] Breton-Gorius J, Reyes F (1976) Ultrastructure of human bone marrow cell maturation. Int Rev Cytol 46: 251–321
[13] Kanz L, Mielke R, Fauser AA (1988) Analysis of human hemopoietic progenitor cells for the expression of glycoprotein IIIa. Exp Hematol 16: 741–747
[14] Asch AS, Barnwell J, Silverstein RL et al. (1987) Isolation of the thrombospondin membrane receptor. J Clin Invest 79: 1054–1061
[15] Odell TT Jr, Jackson CW, Friday TJ (1970) Megakaryocytopoiesis in rats with special reference to polyploidy. Blood 35: 775–782
[16] Raslova H, Roy L, Vourch C et al. (2003) Megakaryocyte polyploidization is associated with a functional gene amplification. Blood 101: 541–544
[17] Ravid K, Lu J, Zimmet JM et al. (2002) Roads to polyploidy: the megakaryocyte example. J Cell Physiol 190: 7–20
[18] Geng Y, Yu Q, Sicinska E et al. (2003) Cyclin E ablation in the mouse. Cell 114: 431–443
[19] Tomer A, Harker LA, Burstein SA (1988) Flow cytometric analysis of normal human megakaryocytes. Blood 71: 1244–1252
[20] Heijnen HF, Debili N, Vainchencker W et al. (1998) Multivesicular bodies are an intermediate stage in the formation of platelet alpha-granules. Blood 91: 2313–2325
[21] Handagama PJ, George JN, Shuman MA et al. (1987) Incorporation of a circulating protein into megakaryocyte and platelet granules. Proc Natl Acad Sci USA 84: 861–865
[22] Lange W, Luig A, Dolken G et al. (1991) Fibrinogen gamma-chain mRNA is not detected in human megakaryocytes. Blood 78: 20–25
[23] Nakao K, Angrist AA (1968) Membrane surface specialization of blood platelet and megakaryocyte. Nature 217: 960–961
[24] Behnke O (1968) An electron microscope study of the megacaryocyte of the rat bone marrow. I. The development of the demarcation membrane system and the platelet surface coat. J Ultrastruct Res 24: 412–433
[25] Yamada F (1957) The fine structure of megakaryocyte in the mouse spleen. Acta Anat (Basel) 29: 267–290
[26] Radley JM, Haller CJ (1982) The demarcation membrane system of the megakaryocyte: a misnomer? Blood 60: 213–219
[27] Italiano JE Jr, Shivdasani RA (2003) Megakaryocytes and beyond: the birth of platelets. J Thromb Haemost 1: 1174–1182

[28] White JG, Krumwiede M (1987) Further studies of the secretory pathway in thrombin-stimulated human platelets. Blood 69: 1196–1203
[29] Daimon T, Gotoh Y (1982) Cytochemical evidence of the origin of the dense tubular system in the mouse platelet. Histochemistry 76: 189–196
[30] Gerrard JM, White JG, Rao GH et al. (1976) Localization of platelet prostaglandin production in the platelet dense tubular system. Am J Pathol 83: 283–298
[31] Möhle R, Green D, Moore MA et al. (1997) Constitutive production and thrombin-induced release of vascular endothelial growth factor by human megakaryocytes and platelets. Proc Natl Acad Sci USA 94: 663–668
[32] Wright J (1906) The origin and nature of blood platelets. Boston Med Surg J 154: 643–645
[33] Lichtman MA, Chamberlain JK, Simon W et al. (1978) Parasinusoidal location of megakaryocytes in marrow: a determinant of platelet release. Am J Hematol 4: 303–312
[34] Scurfield G, Radley JM (1981) Aspects of platelet formation and release. Am J Hematol 10: 285–296
[35] Tavassoli M, Aoki M (1989) Localization of megakaryocytes in the bone marrow. Blood Cells 15: 3–14
[36] Thiery JP, Bessis M (1956) Genesis of blood platelets from the megakaryocytes in living cells. C R Hebd Seances Acad Sci 242: 290–292
[37] Behnke O (1969) An electron microscope study of the rat megacaryocyte. II. Some aspects of platelet release and microtubules. J Ultrastruct Res 26: 111–129
[38] Becker RP, De Bruyn PP (1976) The transmural passage of blood cells into myeloid sinusoids and the entry of platelets into the sinusoidal circulation; a scanning electron microscopic investigation. Am J Anat 145: 183–205
[39] Kosaki G (2005) In vivo platelet production from mature megakaryocytes: does platelet release occur via proplatelets? Int J Hematol 81: 208–219
[40] Patel SR, Hartwig JH, Italiano JE Jr (2005) The biogenesis of platelets from megakaryocyte proplatelets. J Clin Invest 115: 3348–3354
[41] Leven RM, Nachmias VT (1982) Cultured megakaryocytes: changes in the cytoskeleton after ADP-induced spreading. J Cell Biol 92: 313–323
[42] Tablin F, Castro M, Leven RM (1990) Blood platelet formation in vitro. The role of the cytoskeleton in megakaryocyte fragmentation. J Cell Sci 97(Pt1): 59–70
[43] Italiano JE Jr, Lecine P, Shivdasani RA et al. (1999) Blood platelets are assembled principally at the ends of proplatelet processes produced by differentiated megakaryocytes. J Cell Biol 147: 1299–1312
[44] Choi ES, Nichol JL, Hokom MM (1995) Platelets generated in vitro from proplatelet-displaying human megakaryocytes are functional. Blood 85: 402–413
[45] Cramer EM, Norol F, Guichard J et al. (1997) Ultrastructure of platelet formation by human megakaryocytes cultured with the Mpl ligand. Blood 89: 2336–2346
[46] Lecine P, Villeval JL, Vyas P et al. (1998) Mice lacking transcription factor NF-E2 provide in vivo validation of the proplatelet model of thrombocytopoiesis and show a platelet production defect that is intrinsic to megakaryocytes. Blood 92: 1608–1616
[47] Kaufman RM, Airo R, Pollack S (1965) Circulating megakaryocytes and platelet release in the lung. Blood 26: 720–731
[48] Harker LA, Finch CA (1969) Thrombokinetics in man. J Clin Invest 48: 963–974
[49] Trowbridge EA, Martin JF, Slater DN et al. (1984) The origin of platelet count and volume. Clin Phys Physiol Meas 5: 145–170
[50] Schwer HD, Lecine P, Tiwari S et al. (2001) A lineage-restricted and divergent beta-tubulin isoform is essential for the biogenesis, structure and function of blood platelets. Curr Biol 11: 579–586
[51] Topp KS, Tablin F, Levin J (1990) Culture of isolated bovine megakaryocytes on reconstituted basement membrane matrix leads to proplatelet process formation. Blood 76: 912–924
[52] Patel SR, Richardson JL, Schulze H et al. (2005) Differential roles of microtubule assembly and sliding in proplatelet formation by megakaryocytes. Blood 106: 4076–4085
[53] Rojnuckarin P, Kaushansky K (2001) Actin reorganization and proplatelet formation in murine megakaryocytes: the role of protein kinase calpha. Blood 97: 154–161
[54] Caine YG, Vlodavsky I, Hersh M et al. (1986) Adhesion, spreading and fragmentation of human megakaryocytes exposed to subendothelial extracellular matrix: a scanning electron microscopy study. Scan Electron Microsc Pt3:1087–1094
[55] Eldor A, Levine RF, Caine YG et al. (1986) Megakaryocyte interaction with the subendothelial extracellular matrix. Prog Clin Biol Res 215: 399–404
[56] Tavassoli M, Aoki M (1981) Migration of entire megakaryocytes through the marrow-blood barrier. Br J Haematol 48: 25–29
[57] Lane WJ, Dias S, Hattori K et al. (2000) Stromal derived factor 1-induced megakaryocyte migration and platelet production is dependent on matrix metalloproteinases. Blood 96: 4152–4159
[58] Petit I, Szyper-Kravitz M, Nagler A et al. (2002) G-CSF induces stem cell mobilization by decreasing bone marrow SDF-1 and up-regulating CXCR4. Nat Immunol 3: 687–694
[59] Levine RF, Eldor A, Shoff PK et al. (1993) Circulating megakaryocytes: delivery of large numbers of intact, mature megakaryocytes to the lungs. Eur J Haematol 51: 233–246
[60] Trowbridge EA, Martin JF, Slater DN (1982) Evidence for a theory of physical fragmentation of megakaryocytes, implying that all platelets are produced in the pulmonary circulation. Thromb Res 28: 461–475
[61] Radley JM, Haller CJ (1983) Fate of senescent megakaryocytes in the bone marrow. Br J Haematol 53: 277–287
[62] Davis E, Corash L, Baker G et al. (1990) Splenic thrombopoiesis after bone marrow ablation with radiostrontium: a murine model. J Lab Clin Med 116: 879–888
[63] Zauli G, Vitale M, Falcieri E et al. (1997) In vitro senescence and apoptotic cell death of human megakaryocytes. Blood 90: 2234–2243
[64] De Botton S, Sabri S, Daugas E et al. (2002) Platelet formation is the consequence of caspase activation within megakaryocytes. Blood 100: 1310–1317
[65] Kelemen E, Cserhati I, Tanos B (1958) Demonstration and some properties of human thrombopoietin in thrombocythaemic sera. Acta Haematol 20: 350–355
[66] Gordon MS, Hoffman R (1992) Growth factors affecting human thrombocytopoiesis: potential agents for the treatment of thrombocytopenia. Blood 80: 302–307
[67] Vainchenker W, Debili N, Mouthon MA et al. (1995) Megakaryocytopoiesis: cellular aspects and regulation. Crit Rev Oncol Hematol 20: 165–192
[68] Williams N (1991) Is thrombopoietin interleukin 6? Exp Hematol 19: 714–718
[69] Wendling F, Varlet P, Charon M et al. (1986) MPLV: a retrovirus complex inducing an acute myeloproliferative leukemic disorder in adult mice. Virology 149: 242–246
[70] Souyri M, Vigon I, Penciolelli JF et al. (1990) A putative truncated cytokine receptor gene transduced by the myeloproliferative leukemia virus immortalizes hematopoietic progenitors. Cell 63: 1137–1147

[71] Methia N, Louache F, Vainchenker W et al. (1993) Oligodeoxynucleotides antisense to the proto-oncogene c-mpl specifically inhibit in vitro megakaryocytopoiesis. Blood 82: 1395–1401

[72] de Sauvage FJ, Hass PE, Spencer SD et al. (1994) Stimulation of megakaryocytopoiesis and thrombopoiesis by the c-Mpl ligand. Nature 369: 533–538

[73] Lok S, Kaushansky K, Holly RD et al. (1994) Cloning and expression of murine thrombopoietin cDNA and stimulation of platelet production in vivo. Nature 369: 565–568

[74] Bartley TD, Bogenberger J, Hunt P et al. (1994) Identification and cloning of a megakaryocyte growth and development factor that is a ligand for the cytokine receptor Mpl. Cell 77: 1117–1124

[75] Kaushansky K, Lok S, Holly RD et al. (1994) Promotion of megakaryocyte progenitor expansion and differentiation by the c-Mpl ligand thrombopoietin. Nature 369: 568–571

[76] Murone M, Carpenter DA, de Sauvage FJ (1998) Hematopoietic deficiencies in c-mpl and TPO knockout mice. Stem Cells 16: 1–6

[77] Alexander WS, Roberts AW, Nicola NA et al. (1996) Deficiencies in progenitor cells of multiple hematopoietic lineages and defective megakaryocytopoiesis in mice lacking the thrombopoietic receptor c-Mpl. Blood 87: 2162–2170

[78] Gurney AL, Carver-Moore K, de Sauvage FJ et al. (1994) Thrombocytopenia in c-mpl-deficient mice. Science 265: 1445–1447

[79] Kojima H, Shinagawa A, Shimizu S et al. (2001) Role of phosphatidylinositol-3 kinase and its association with Gab1 in thrombopoietin-mediated up-regulation of platelet function. Exp Hematol 29: 616–622

[80] Kaushansky K (2005) The molecular mechanisms that control thrombopoiesis. J Clin Invest 115: 3339–3347

[81] Young JC, Bruno E, Luens KM et al. (1996) Thrombopoietin stimulates megakaryocytopoiesis, myelopoiesis, and expansion of $CD34^+$ progenitor cells from single $CD34^+Thy\text{-}1^+Lin\text{-}$ primitive progenitor cells. Blood 88: 1619–1631

[82] Scheding S, Bergmann M, Shimosaka A et al. (2002) Human plasma thrombopoietin levels are regulated by binding to platelet thrombopoietin receptors in vivo. Transfusion 42: 321–327

[83] Slichter SJ (2004) Relationship between platelet count and bleeding risk in thrombocytopenic patients. Transfus Med Rev 18: 153–167

[84] Branehog I, Ridell B, Swolin B et al. (1975) Megakaryocyte quantifications in relation to thrombokinetics in primary thrombocythaemia and allied diseases. Scand J Haematol 15: 321–332

[85] Bussel JB, Kuter DJ, George JN et al. (2006) AMG 531, a thrombopoiesis-stimulating protein, for chronic ITP. N Engl J Med 355: 1672–1681

[86] Kaser A, Brandacher G, Steurer W et al. (2001) Interleukin-6 stimulates thrombopoiesis through thrombopoietin: role in inflammatory thrombocytosis. Blood 98: 2720–2725

[87] Jelkmann W (2001) The role of the liver in the production of thrombopoietin compared with erythropoietin. Eur J Gastroenterol Hepatol 13: 791–801

[88] Guerriero A, Worford L, Holland HK et al. (1997) Thrombopoietin is synthesized by bone marrow stromal cells. Blood 90: 3444–3455

[89] Peck-Radosavljevic M, Wichlas M, Zacherl J et al. (2000) Thrombopoietin induces rapid resolution of thrombocytopenia after orthotopic liver transplantation through increased platelet production. Blood 95: 795–801

[90] Avecilla ST, Hattori K, Heissig B et al. (2004) Chemokine-mediated interaction of hematopoietic progenitors with the bone marrow vascular niche is required for thrombopoiesis. Nat Med 10: 64–71

[91] Gewirtz AM, Calabretta B, Rucinski B et al. (1989) Inhibition of human megakaryocytopoiesis in vitro by platelet factor 4 (PF4) and a synthetic COOH-terminal PF4 peptide. J Clin Invest 83: 1477–1486

[92] Lambert MP, Rauova L, Bailey M et al. (2007) Platelet factor 4 is a negative autocrine in vivo regulator of megakaryopoiesis: clinical and therapeutic implications. Blood 110: 1153–1160

[93] Klinger MH, Wilhelm D, Bubel S et al. (1995) Immunocytochemical localization of the chemokines RANTES and MIP-1 alpha within human platelets and their release during storage. Int Arch Allergy Immunol 107: 541–546

[94] Clemetson KJ, Clemetson JM, Proudfoot AE et al. (2000) Functional expression of CCR1, CCR3, CCR4, and CXCR4 chemokine receptors on human platelets. Blood 96: 4046–4054

[95] Kowalska MA, Ratajczak MZ, Majka M et al. (2000) Stromal cell derived factor-1 and macrophage derived chemokine: 2 chemokines that activate platelets. Blood 96: 50–57

[96] Tsai FY, Orkin SH (1997) Transcription factor GATA-2 is required for proliferation/survival of early hematopoietic cells and mast cell formation, but not for erythroid and myeloid terminal differentiation. Blood 89: 3636–3643

[97] Zhang P, Behre G, Pan J et al. (1999) Negative cross-talk between hematopoietic regulators: GATA proteins repress PU.1. Proc Natl Acad Sci USA 96: 8705–8710

[98] Crispino JD (2005) GATA1 in normal and malignant hematopoiesis. Semin Cell Dev Biol 16: 137–147

[99] Nerlov C, Graf T (1998) PU.1 induces myeloid lineage commitment in multipotent hematopoietic progenitors. Genes Dev 12: 2403–2412

[100] Tsang AP, Visvader JE, Turner CA et al. (1997) FOG, a multitype zinc finger protein, acts as a cofactor for transcription factor GATA-1 in erythroid and megakaryocytic differentiation. Cell 90: 109–119

[101] Shivdasani RA, Fujiwara Y, McDevitt MA et al. (1997) A lineage-selective knockout establishes the critical role of transcription factor GATA-1 in megakaryocyte growth and platelet development. EMBO J 16: 3965–3973

[102] Mehaffey MG, Newton AL, Gandhi MJ et al. (2001) X-linked thrombocytopenia caused by a novel mutation of GATA-1. Blood 98: 2681–2688

[103] Wang X, Crispino JD, Letting DL et al. (2002) Control of megakaryocyte-specific gene expression by GATA-1 and FOG-1: role of Ets transcription factors. EMBO J 21: 5225–5234

[104] Lecine P, Italiano JE Jr, Kim SW (2000) Hematopoietic-specific beta 1 tubulin participates in a pathway of platelet biogenesis dependent on the transcription factor NF-E2. Blood 96: 1366–1373

[105] Tiwari S, Italiano JE Jr, Barral DC et al. (2003) A role for Rab27b in NF-E2-dependent pathways of platelet formation. Blood 102: 3970–3979

# 4 Das thrombozytäre Transkriptom

*P. Bugert, H. Klüter*

## Einleitung

Trotz fehlenden Zellkerns verfügen Thrombozyten dennoch über genetische Information in Form von Gentranskripten (Messenger-RNA, mRNA). Die Gesamtheit der unterschiedlichen mRNA-Moleküle wird als Transkriptom bezeichnet. Ungeachtet der Frage nach der biologischen Bedeutung der RNA für die Thrombozytenfunktion kann davon ausgegangen werden, dass das Transkriptom der Thrombozyten die Genexpression der späten Megakaryopoese zum Zeitpunkt der Thrombozytenabschnürung widerspiegelt. Die Komplexität und Zusammensetzung der Gentranskripte kann demnach als Informationsquelle genutzt werden, um beispielsweise physiologische und pathophysiologische Prozesse der Megakaryozyten und Thrombozyten zu analysieren oder neue Proteinfunktionen zu identifizieren. In diesem Kapitel werden die wichtigsten Methoden der Transkriptomanalyse erläutert und die bisherigen Erkenntnisse aus verschiedenen Untersuchungen zusammengefasst. Die methodischen und prinzipiellen Limitationen der RNA-basierten Analysen werden diskutiert.

## 4.1 RNA in Thrombozyten

Das Vorliegen intakter Messenger-RNA (mRNA) in Thrombozyten wurde erstmals durch Experimente nachgewiesen, in denen man die Biosynthese von Proteinen in zellfreien Systemen unter Zugabe von RNA-Extrakten aus Thrombozyten zeigen konnte (Booyse u. Rafelson 1967; Booyse u. Rafelson 1968). Später gelang es dann auch mithilfe sensitiver molekularbiologischer Methoden, insbesondere der »polymerase chain reaction« (PCR), thrombozytenspezifische Gentranskripte nachzuweisen (Newman et al. 1988). Die Erstellung einer cDNA-(»complementary-DNA«-)Bibliothek aus thrombozytärer RNA ermöglichte erstmals, die Vielfalt der unterschiedlichen Gentranskripte, das Transkriptom, in Thrombozyten zu zeigen (Wicki et al. 1989).

Da in Thrombozyten keine aktive Gentranskription stattfindet, unterliegt das Transkriptom im Gegensatz zu kernhaltigen Zellen keinen dynamischen Veränderungen bezüglich Neusynthese von mRNA. Ein regulierter oder allgemeiner enzymatischer Abbau der vorhandenen RNA-Moleküle könnte durchaus stattfinden, wurde aber bislang nicht gezeigt. Im Gegensatz zu kernhaltigen Zellen kann also in Thrombozyten von einem stabilen, nichtdynamischen Transkriptom ausgegangen werden.

### 4.1.1 Die biologische Bedeutung der RNA in Thrombozyten

In verschiedenen Studien konnte eine De-novo-Proteinbiosynthese in Thrombozytensuspensionen ex vivo gezeigt werden (Kieffer et al. 1987; Santoso et al. 1993; Weyrich et al. 1998). Die Regulation der De-novo-Proteinbiosynthese erfolgt vermutlich unter Beteiligung von intrazellulärer Signaltransduktion und dem Translationsfaktor eIF4E (»eukaryotic translation initiation factor 4E«) (Pabla et al. 1999; Lindemann et al. 2001). In neueren Untersuchungen konnte außerdem gezeigt werden, dass Thrombozyten über prä-mRNA, also die unprozessierten Primärtranskripte, verfügen und dass diese signalabhängig durch Splicing zu reifen mRNA-Molekülen prozessiert werden (Denis et al. 2005). Thrombozyten verfügen demnach über ein Instrumentarium, um nach Aktivierung Proteine synthetisieren und damit nachhaltig auf ihre Umgebung Einfluss nehmen zu können. Dies könnte insbesondere für die unspezifische Immunabwehr und die Prozesse der Entzündung von Bedeutung sein (Lindemann u. Gawaz 2007).

Dem gegenüber steht eine Reihe von Untersuchungen, in denen die De-novo-Proteinbiosynthese in Thrombozytenpräparationen mit dem Grad der Leukozytenkontamination korrelierte. Der Anstieg der Zytokinkonzentrationen und der entsprechenden mRNA-Moleküle in Thrombozytenkonzentraten über die Dauer der Lagerung war nur dann zu beobachten, wenn in den Thrombozytenpräparaten eine ausreichende Zahl an Leukozyten vorlag (Christensen et al. 1998; Hartwig et al. 2002). Diese Ergebnisse konnten kürzlich durch die gezielte Untersuchung der Interleukin-1β-(Il-1β-)Synthese in unterschiedlichen Thrombozytenpräparationen bestätigt werden (Pillitteri et al. 2007). In leukozytenfreien Thrombozytensuspensionen war zu keinem Zeitpunkt eine Il-1β-Synthese nachweisbar. Bereits bei einer geringfügigen Kontamination von 1 Leukozyt in $10^5$ Thrombozyten konnte eine Il-1β-Synthese nach Thrombinaktivierung nachgewiesen werden. Dieses Maß an Leukozytenkontamination entspricht etwa dem in anderen Studien, in denen über De-novo-Proteinbiosynthese in Thrombozyten berichtet wurde (Kieffer et al. 1987; Santoso et al. 1993; Weyrich et al. 1998).

Die biologische Bedeutung der RNA in Thrombozyten als genetischer Informationsträger für die regulierte Neu-

synthese von Proteinen bleibt ein Thema kontroverser Diskussion. Aus transfusionsmedizinischer Sicht scheinen die mRNA und die Proteinbiosynthese in Thrombozyten keine wesentliche Rolle zu spielen. Dies ist dadurch begründet, dass bei Transfusion mit pathogen inaktivierten Thrombozytenkonzentraten, bei denen Nukleinsäuren und damit auch mRNA durch bestimmte Verfahren (z. B. Behandlung mit Psoralenderivaten und UV-A-Bestrahlung) irreversibel geschädigt werden, im Vergleich zur Transfusion mit unbehandelten Präparaten kein signifikanter Unterschied bezüglich des therapeutischen Benefits für den Patienten zu beobachten ist (van Rhenen et al. 2003).

### 4.1.2 Qualität und Quantität der RNA in Thrombozyten

Ungeachtet der Frage nach der biologischen Aktivität der Gentranskripte bietet das Transkriptom eine reichhaltige Informationsquelle zum Studium grundlegender Prozesse und zur Erforschung der Pathomechanismen bei Thrombozytenstörungen. Bei der genaueren Betrachtung der Struktur der Gentranskripte in Thrombozyten konnten längere »untranslated regions« (UTR) und eine stabilere Faltung der mRNA beobachtet werden (Dittrich et al. 2006). Die mRNA in Thrombozyten scheint also besonders stabil zu sein. Unklar ist jedoch, ob diese Stabilisierung einen spezifischen physiologischen Mechanismus darstellt oder ob lediglich das thrombozytäre Transkriptom die Gentranskripte beinhaltet, die nach Abbau der weniger stabilen Moleküle noch nachweisbar sind. Also spiegelt die Zusammensetzung des Thrombozytentranskriptoms die Genexpression in den Megakaryozyten zum Zeitpunkt der Abschnürung wider, wobei jedoch einschränkend zu vermuten ist, dass vorwiegend die stabileren mRNA-Moleküle zu finden sind.

Die Menge an Gesamt-RNA und insbesondere der darin enthaltene Anteil an mRNA in Thrombozyten kann bislang nur grob geschätzt werden. Bei der Isolierung von Nukleinsäuren aus Thrombozyten erhält man ein Gemisch aus mitochondrialer DNA (mtDNA), ribosomaler RNA (rRNA) und mRNA. Die mtDNA macht etwa 80–90% der Nukleinsäuren aus, während sich der Anteil von rRNA und mRNA nur schwer abschätzen lässt (Abb. 4.1, Bugert et al. 2003).

In kernhaltigen Zellen umfasst die rRNA etwa 90–95% der Gesamt-RNA. Ob dies auch für Thrombozyten zutrifft, ist nicht bekannt. Aus $10^9$ Thrombozyten können etwa 100 ng Gesamt-RNA isoliert werden. Eine vergleichbare RNA-Menge kann bereits aus ca. $10^4$ Leukozyten oder anderen kernhaltigen Zellen gewonnen werden. Demnach ist der RNA-Gehalt in Thrombozyten vermutlich etwa 100.000-fach geringer als in kernhaltigen Zellen.

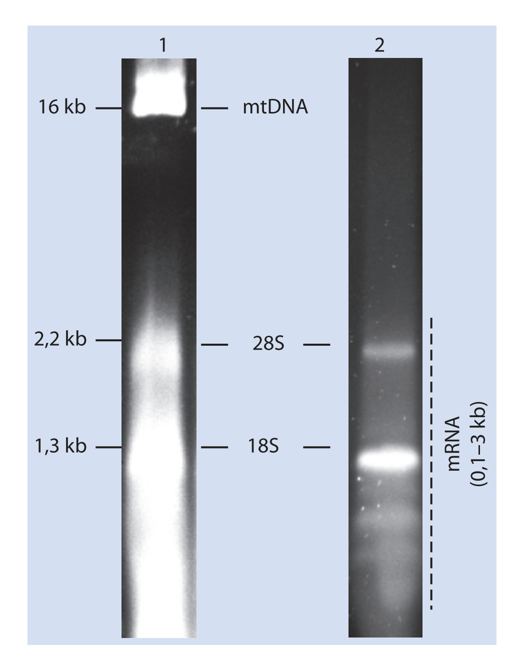



**Abb. 4.1.** Auftrennung einer Nukleinsäurenextraktion aus Thrombozyten mittels denaturierender Agarose-Gelelektrophorese. Spur 1 enthält die Gesamtnukleinsäuren, bestehend aus mtDNA (mitochondriale DNA, ca. 16 kbp Größe), rRNA (ribosomale RNA, 28S und 18S Untereinheiten) und mRNA (als »Schmier« im Hintergrund). Nach DNAse-Verdau der mtDNA bleiben die RNA-Moleküle übrig (Spur 2).

Aus dem geringen RNA-Gehalt der Thrombozyten resultieren im Bezug auf RNA-Analysen besondere Herausforderungen.

**Anforderungen an die RNA-Analyse von Thrombozyten**

- Die Methoden müssen für die Analyse kleinster RNA-Mengen ausreichend sensitiv sein.
- Die Kontamination der Thrombozyten mit kernhaltigen Zellen muss minimal gehalten werden.

Sensitive Methoden für die Analyse von RNA basieren meist auf dem PCR-Prinzip und konnten auch für die Charakterisierung von Thrombozyten-RNA etabliert werden (Rox et al. 2004). Zusammen mit einem optimierten Protokoll für die Isolierung und Leukozytendepletion der Thrombozyten (Rolf et al. 2005) wurden die Voraussetzungen für die Anwendung der RNA-Analysen bei klinischen Proben geschaffen.

## 4.2 Moderne Methoden der Transkriptomanalyse

Methoden zur Transkriptomanalyse zeichnen sich dadurch aus, dass eine Vielzahl verschiedener mRNA-Moleküle parallel und zumindest semiquantitativ analysiert werden können. Diese Eigenschaften treffen insbesondere auf die SAGE-Methode (»serial analysis of gene expression«) und die Microarray-Analyse zu. Beide zählen zu den wichtigsten Methoden der modernen Transkriptomanalyse.

### 4.2.1 Die SAGE-Methode

Die SAGE-Methode ist bei der Charakterisierung des thrombozytären Transkriptoms im Vergleich zur Microarray-Analyse von geringerer Bedeutung und soll daher in diesem Kapitel nur kurz beschrieben werden.

Die SAGE-Methode ermöglicht einen quantitativen Nachweis nahezu aller in einer RNA-Probe befindlichen Gentranskripte. Im Vergleich zur Microarray-Analyse ist die SAGE-Methode zwar unabhängig von Hybridisierungsparametern, jedoch ist sie deutlich zeitaufwendiger und arbeitsintensiver. Die SAGE-Methode beruht auf der Tatsache, dass ein Gentranskript bereits anhand der Nukleotidsequenz eines kurzen (ab ca. 14 bp) Teilstücks (»tag«) der mRNA dem jeweiligen Gen durch Datenbankabgleich zugeordnet werden kann (Velculescu et al. 1995). Das Prozedere beginnt mit dem Umschreiben der mRNA in doppelsträngige cDNA, gefolgt von einem Restriktionsverdau der cDNA zur Erzeugung der kurzen »tags«. Nach Ligation der »tags« zu längeren Konkatemeren werden diese PCR-amplifiziert und in Vektoren kloniert, um die SAGE-Bibliothek zu erstellen. Anschließend werden die einzelnen Klone sequenziert und die Sequenzdaten mit SAGE-Datenbanken verglichen, um die mRNA-Spezies zu identifizieren.

Die Häufigkeit, mit der eine mRNA-Spezies in einer SAGE-Bibliothek gefunden wird, ist ein direktes Maß der Expressionsstärke des entsprechenden Gens. Damit stellt die SAGE-Methode gleichzeitig eine quantitative Messung der Genexpression dar. Die Methode wurde auch zur Analyse des Thrombozytentranskriptoms eingesetzt und lieferte ähnliche Ergebnisse wie die Microarray-Analyse (Gnatenko et al. 2003; Dittrich et al. 2006).

### 4.2.2 Die Microarray-Analyse

Das Prinzip der Microarray-Analyse beruht auf der Verwendung spezifischer Gensonden, meist kurze, synthetische Oligonukleotide, die entweder in einer systematischen Anordnung auf einen Glasobjektträger aufgebracht oder auf speziellen Trägermaterialien durch Photolithographie synthetisiert werden (Affymetrix GeneChips). Diese Microarrays können mehrere Zehntausend verschiedene Gensonden tragen und somit alle bekannten, unbekannten und hypothetischen Gene detektieren (Lockhart et al. 1996). Die Vorgehensweise bei der Microarray-Analyse beinhaltet die folgenden Schritte (◘ Abb. 4.2):

- Umschreiben der mRNA in cDNA
- optionale Amplifikation der cDNA bei geringen RNA-Mengen
- Fluoreszenzmarkierung der cDNA (direkt während der cDNA-Synthese durch enzymatischen Einbau oder danach durch chemische Kopplung)
- Hybridisierung der fluoreszenzmarkierten Proben auf den Microarray
- Auslesen der Fluoreszenzsignale mittels Laserscanner
- Zuordnung der Signale zu den jeweiligen Genen mittels Genlisten und Quantifizierung der Signale als Maß der Expressionsstärke

Da die Microarray-Analyse von einer Vielzahl experimenteller Parameter und enzymatischer Prozesse beeinflusst wird, ist keine absolute Quantifizierung der Genexpression möglich. Die Stärke der Fluoreszenzsignale (mittlere Fluoreszenzintensität = MFI) gibt lediglich ein semiquantitatives Maß der Expressionsstärke wider. Jedoch eignet sich die Microarray-Analyse insbesondere für die vergleichende Untersuchung zweier RNA-Proben mit dem Ziel Unterschiede der Genexpression zu ermitteln. Das thrombozytäre Transkriptom wurde mithilfe der Microarray-Analyse in verschiedenen Studien analysiert (Bugert et al. 2003; Gnatenko et al. 2003; McRedmond et al. 2004; Bugert u. Klüter 2006).

## 4.3 Gentranskripte in Thrombozyten

Zur Analyse des thrombozytären Transkriptoms wurden in mehreren Studien Microarray-Analysen eingesetzt. Diese bestätigten eine Vielzahl früherer Daten und lieferten auch zum Teil neue Erkenntnisse. Insgesamt waren in den meisten Studien etwa 15–20% der untersuchten Gene in Thrombozyten positiv, d. h. mRNA war in signifikanten Mengen nachweisbar (Bugert et al. 2003; Gnatenko et al. 2003; Bugert u. Klüter 2006). Verglichen mit kernhaltigen Zellen, bei denen 25–30% positive Gene zu finden sind, oder teilungsaktiven Zellen in Zellkultur mit über 30% positiven Genen, ist also die Komplexität des thrombozytären Transkriptoms deutlich geringer. Dies könnte, wie bereits in ▶ Kap. 4.1.2 angesprochen, auf den Abbau weniger stabiler RNA-Moleküle zurückzuführen sein.

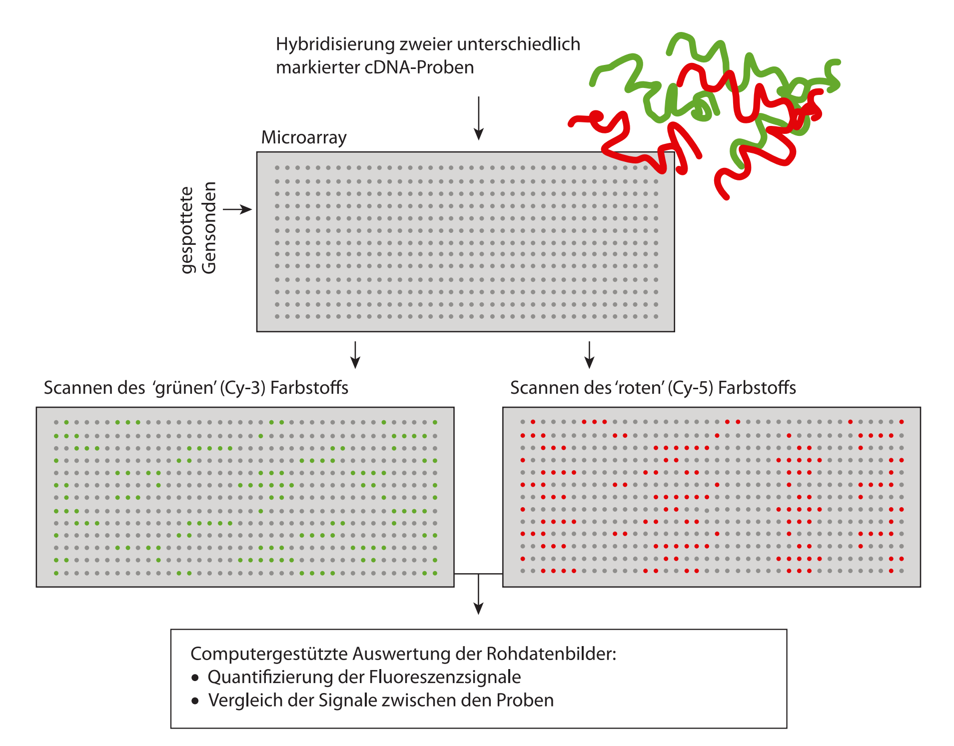



**Abb. 4.2.** Prinzip der Microarray-Analyse. Eine fluoreszenzmarkierte Probe (meist cDNA) wird auf einen Microarray hybridisiert. Nach Waschen unspezifischer Bindungen werden die Fluoreszenzsignale mittels Laserscanner ausgelesen und durch Computeranalyse dem jeweiligen Gen zugeordnet

## 4.3.1 Verteilung der Transkripte in verschiedene Genkategorien

Das thrombozytäre Transkriptom beinhaltet Gentranskripte aus allen funktionellen Genkategorien. Selbst Kategorien, die für die Thrombozytenfunktion keine Bedeutung haben sollten, wie z. B. DNA-Bindungsproteine, DNA-Polymerasen, Histone, Transkriptionsfaktoren etc., sind durch positive Gene vertreten. Vermutlich sind diese Gene in der späten Megakaryopoese exprimiert und sind dann auch in Thrombozyten nachweisbar.

Eine weitere Erkenntnis aus der allgemeinen Betrachtung von Genkategorien ist die Tatsache, dass bestimmte funktionelle Kategorien sich durch einen besonders hohen Anteil positiver Gene auszeichnen. Dies konnte beispielsweise bei der Analyse von 34.039 Genen beobachtet werden, die einen Gesamtanteil von 7.301 (21,5%) positiven Genen aufwiesen (Bugert u. Klüter 2006). Hier waren die Kategorien der Integrine/Glykoproteine mit einem Anteil von 35,3% positiver Gene, die Rezeptoren mit 29% oder Zytoskelettproteine mit 28,3% signifikant häufiger vertreten (Tab. 4.1).

Besonders hohe Anteile positiver Gene zeigten sich in den Kategorien Translation/ribosomale Proteine (48,4%) und DNA-Bindung/-Replikation (41,3%). Ein ähnlich hoher Anteil (ca. 50%) positiver Gene für Translation und ribosomale Proteine konnte bei der Analyse der megakaryozytären Transkriptome festgestellt werden (Kim et al. 2002). Daraus kann gefolgert werden, dass Megakaryozyten eine besonders hohe Proteinbiosyntheserate besitzen, die unter anderem für die Bereitstellung der zahlreichen Faktoren in den Speichergranula der Thrombozyten erforderlich ist. Der hohe Anteil von Gentranskripten für DNA-bindende Proteine (z. B. Histone) und DNA-Replikation in Thrombozyten könnte ebenfalls ein Indiz für einen besonders hohen Bedarf in Megakaryozyten sein. Darüber hinaus sind diese mRNA-Moleküle vermutlich besonders stabil und deshalb in großer Zahl in Thrombozyten zu finden. Microarraybasierte Transkriptomanalysen unter Verwendung sogenannter »whole genome arrays« umfassen stets eine große Zahl hypothetischer Proteine, also Gene, deren vollständige Gentranskripte zwar nachgewiesen werden konnten, nicht jedoch die entsprechend kodierten Proteine.

Vergleicht man die Transkriptomdaten aus unterschiedlichen Studien, findet man eine gute Übereinstimmung der Ergebnisse trotz unterschiedlicher Analysesysteme (Bugert et al. 2003; Gnatenko et al. 2003; McRedmond et al. 2004; Bugert et al. 2006). Aus diesen Daten lässt sich eine übereinstimmende Liste der stärksten RNA-Signale erstellen (Tab. 4.2).

Alle bislang veröffentlichten thrombozytären Transkriptome enthielten starke RNA-Signale für verschiedene

**Tab. 4.1.** Gentranskripte des thrombozytären Transkriptoms in funktionellen Kategorien

| Genkategorie | Anzahl der untersuchten Gene | Anzahl der positiven Gene | Anteil der positiven Gene [%] |
|---|---|---|---|
| Integrine/Glykoproteine | 139 | 49 | 35,3* |
| Rezeptoren | 1.328 | 385 | 29,0* |
| Zytoskelett | 381 | 108 | 28,3* |
| Translation/ribosomale Proteine | 438 | 212 | 48,4* |
| DNA-Bindung/-Replikation | 208 | 86 | 41,3* |
| Zytokine/Wachstumsfaktoren | 222 | 57 | 25,7 |
| Mitochondriale Proteine | 431 | 104 | 24,1 |
| Signaltransduktion | 1.157 | 260 | 22,5 |
| Kanäle/Transporter | 530 | 119 | 22,5 |
| Transkription/Splicing | 420 | 88 | 20,7 |
| Hypothetische Proteine | 3.236 | 743 | 23,0 |
| Gesamt | 34.039 | 7.301 | 21,5 |

* Der Anteil positiver Gene in diesen Kategorien ist signifikant höher im Vergleich zum Gesamtanteil positiver Gene (21,5%)

Hämoglobingene (HBB, HBD, HBA1 etc.). Da diese Gentranskripte vermutlich sowohl in Erythrozyten als auch in Retikulozyten dominierend sind, kann nicht ausgeschlossen werden, dass eine Restkontamination der Thrombozyten mit solchen Zellen die Ursache für die RNA-Signale der Hämoglobingene im thrombozytären Transkriptom darstellt.

### 4.3.2 Hämostaseologisch relevante Gentranskripte

Die mRNA des Faktor-XIIIA1-Gens war in allen thrombozytären Transkriptomen unter den stärksten RNA-Signalen zu finden. Weitere Gerinnungsfaktoren (FVIII und FXII) sind durch positive mRNA-Signale vertreten, während andere (FII, FV, FVII etc.) in Thrombozyten nicht zu finden sind, da sie nahezu ausschließlich in der Leber synthetisiert werden (Tab. 4.3).

Uneinigkeit herrscht in der Literatur über das Vorliegen von Tissue-Factor-(TF-)mRNA in Thrombozyten. Während in einigen Studien der Nachweis von TF-mRNA aus thrombozytären RNA-Extrakten gelang (Camera et al. 2003; Schwertz et al. 2006; Panes et al. 2007), konnte bei Microarray- und PCR-basierten Untersuchungen an aufgereinigter Thrombozyten-RNA keine TF-mRNA nachgewiesen werden (Bugert et al. 2003; Fink et al. 2003; Zillmann et al. 2001). Ebenfalls umstritten ist das Vorliegen von FV-mRNA und die Biosynthese des Proteins in Megakaryozyten und Thrombozyten (Giampaolo et al. 2005; Suehiro et al. 2005). Aufgrund der negativen Microarray- und PCR-Daten ist das Modell der FV-Endozytose aus dem Plasma zu favorisieren.

Unter den antikoagulatorischen Faktoren ist lediglich der Tissue Factor Pathway Inhibitor (TFPI) als mRNA in Thrombozyten vorhanden, was sich mit Literaturdaten deckt (Novotny et al. 1988). Andere antikoagulatorische Faktoren (Antithrombin, Protein C etc.) sind erwartungsgemäß negativ.

### 4.3.3 Neue Erkenntisse auf der Basis von Transkriptomdaten

Die vergleichende Analyse megakaryozytärer und thrombozytärer Transkriptome hat zu neuen Erkenntnissen bezüglich der pathophysiologischen Mechanismen von Thrombozytenstörungen, beispielsweise der Polycythaemia vera (PV) oder der essenziellen Thrombozytämie (ET), beigetragen (Tenedini 2004; Gnatenko et al. 2005; Goerttler 2005). Beispielsweise konnten in Megakaryozyten von ET-Patienten Anzeichen einer erhöhten Apoptoseresistenz gefunden werden. Das thrombozytäre Transkriptom von ET-Patienten zeigte außerdem, dass das Expressionsmuster bestimmter Subtypen von 17β-Hydroxysteroid-Deoxygenasen signifikant mit der ET assoziiert ist (Gnatenko et al. 2005). Auch bei anderen hämatologischen Erkrankungen konnten durch die thrombozytäre Transkriptomanalyse neue Erkenntnisse gewonnen werden. So liegt bei Patienten mit Sichelzellanämie ein patho-

**Tab. 4.2.** Die 20 stärksten RNA-Signale im thrombozytären Transkriptom

| Genbezeichnung | Kurzbeschreibung | Referenz* |
|---|---|---|
| B2M | β2-Mikroglobulin | 1–4 |
| CCL5 | CC-Motive-Chemokine (RANTES) | 1, 2 |
| CLU | Clusterin, Komplementlyseinhibitor | 1–4 |
| F13A1 | Koagulationsfaktor XIII, Untereinheit α1 | 1–4 |
| FTH1 | Ferritin, schwere Kette | 1–4 |
| FTL1 | Ferritin, leichte Kette | 1–4 |
| GP X1 | Glutathionperoxidase | 1–4 |
| HBA1 | Hämoglobin, α1 | 1, 4 |
| HBB | Hämoglobin, β | 1–4 |
| HBD | Hämoglobin, δ | 2, 4 |
| HLA-C | Humanes Leukozytenantigen, Klasse I, C-Locus | 1, 3, 4 |
| ITGA2B | Integrin $\alpha_{II}$ (thrombozytäres Glykoprotein IIb), »cluster determinant« CD41 | 1, 2, 4 |
| NRGN | Neurogranin | 1–4 |
| OAZ1 | Ornithindecarboxylase-Antizym | 1–4 |
| PF4 | Plättchenfaktor 4 | 1–4 |
| RGS10 | Regulator der G-Protein-Signaltransduktion 10 | 1, 2, 4 |
| SPARC | Osteonektin | 1–4 |
| TAGLN2 | Transgelin 2 | 1–4 |
| TMSB4X | Thymosin β4 | 1–4 |
| UBC | Ubiquitin C | 1–4 |

* *1* Gnatenko et al. 2003, *2* Bugert et al. 2003, *3* McRedmond et al. 2004, *4* Bugert u. Klüter 2006

logisch veränderter Arginin- und Polyaminmetabolismus in Thrombozyten vor, der vermutlich zur Plättchenaktivierung und Vaskulopathie bei dieser Erkrankung beiträgt (Raghavachari et al. 2007).

Auf der Basis vergleichender Transkriptomanalysen bei in vitro differenzierten Megakaryozyten und Erythroblasten konnten bislang für Thrombozyten unbekannte Membranproteine identifiziert werden (Macaulay et al. 2007). Insbesondere der dabei gefundene Succinatrezeptor SUCNR1 scheint eine bedeutsame Rolle für die Thrombozytenfunktion zu spielen.

**Tab. 4.3.** Hämostaseologisch relevante Gentranskripte in Thrombozyten

| Genfunktion und -bezeichnung | mRNA-Signal* |
|---|---|
| Glykoprotein Ia (Untereinheit des Kollagenrezeptors) | Positiv |
| Glykoprotein Ib (Untereinheit des vWF-Rezeptors) | Positiv |
| Integrin $\beta_1$ (Fibronektinrezeptor, CD29), ITGB1 | Positiv |
| Fibrinogen, α-, β-, γ-Untereinheiten | Negativ |
| Koagulationsfaktor II (Thrombin), F2 | Negativ |
| Tissue Factor, F3 | Negativ |
| Koagulationsfaktoren V/VII, F5/F7 | Negativ |
| Koagulationsfaktor VIII, F8 | Positiv |
| Koagulationsfaktoren IX/X/XI, F9/F10/F11 | Negativ |
| Koagulationsfaktor XII, F12 | Positiv |
| Koagulationsfaktor XIIIA1, F13A1 | Positiv |
| Koagulationsfaktor XIIIB, F13B | Negativ |
| Plasminogenaktivatorinhibitor 1, PAI-1 | Negativ |
| Protein C | Negativ |
| Serinproteaseinhibitor C1 (Antithrombin), SERPINC1 | Negativ |
| Thrombinrezeptor, F2R (PAR-1) | Positiv |
| Thrombomodulin, THBD | Negativ |
| Tissue Factor Pathway Inhibitor, TFPI | Positiv |

* Daten aus Bugert et al. 2003; Bugert u. Klüter 2006

## 4.4 Limitationen der RNA-Analysen

Vergleichende Analysen von Transkriptom- und Proteomdaten haben Limitationen der RNA-basierten Untersuchungen aufgezeigt (McRedmond et al. 2004; Bugert et al. 2006). Etwa 65–70% der Daten aus beiden molekularen Profilen stimmen überein, während zahlreiche Gentranskripte mit zum Teil starken mRNA-Signalen, wie z. B. OAZ1, UBC und Ferritin (siehe Tab. 4.2), bislang auf Proteinebene nicht gefunden werden konnten. Es ist zu vermuten, dass eine Translation dieser Gentranskripte in Megakaryozyten zum Zeitpunkt der Thrombozytenabschnürung nicht erfolgt. Darüber hinaus wurden auch Proteine identifiziert, deren mRNA nicht nachweisbar war (McRedmond et al. 2004). Hier spielt vermutlich die geringe Stabilität der mRNA eine Rolle.

Neben den genannten biologischen Ursachen sind auch methodische Limitationen für Diskrepanzen zwischen Transkriptomdaten und der tatsächlichen Proteinexpression zu nennen. Bei der microarraybasierten Transkriptomanalyse ist die Spezifität und Sensitivität jeder einzelnen Gensonde

entscheidend für den korrekten mRNA-Nachweis. In einem komplexen System mit mehreren Zehntausend verschiedenen Sonden sind falsch positive und falsch negative Ergebnisse zu berücksichtigen. Aus diesem Grund sind Arraydaten stets mit unabhängigen Methoden (z. B. PCR) zu verifizieren.

## Literatur


Booyse FM, Rafelson ME (1967) Stable messenger RNA in the synthesis of contractile protein in human platelets. Biochim Biophys Acta 145: 188–190

Booyse FM, Rafelson ME (1968) Studies on human platelets. I. Synthesis of platelet protein in a cell free system. Biochim Biophys Acta 166: 689–697

Bugert P, Klüter H (2006) Profiling of gene transcripts in human platelets: an update of the platelet transcriptome. Platelets 17: 503–504

Bugert P, Dugrillon A, Günaydin A et al. (2003) Messenger RNA profiling of human platelets by microarray hybridization. Thromb Haemost 90: 738–748

Bugert P, Ficht M, Klüter H. (2006) Towards the identification of novel platelet receptors: comparing RNA and proteome approaches. Transfus Med Hemother 33: 236–243

Camera M, Frigerio M, Toschi V et al. (2003) Platelet activation induces cell-surface immunoreactive tissue factor expression, which is modulated differently by antiplatelet drugs. Arterioscler Thromb Vasc Biol 23: 1690–1696

Christensen LL, Grunnet N, Rüdiger N (1998) Comparison of the level of Zytokine mRNA in buffy coat derived platelet concentrates prepared with or without white cell reduction by filtration. Transfusion 38: 236–241

Denis MM, Tolley ND, Bunting M et al. (2005) Escaping the nuclear confines: signal-dependent pre-mRNA splicing in anucleate platelets. Cell 122: 379–391

Dittrich M, Birschmann I, Pfrang J, Herterich S, Smolenski A, Walter U, Dandekar T (2006) Analysis of SAGE data in human platelets: features of the transcriptome in an anucleate cell. Thromb Haemost 95: 643–651

Fink L, Holschermann H, Kwapiszewska G et al. (2003) Characterization of platelet-specific mRNA by real-time PCR after laser-assisted microdissection. Thromb Haemost 90: 749–756

Giampaolo A, Vulcano F, Macioce G et al. (2005) Factor-V expression in platelets from human megakaryocytic culture. Br J Haematol 128: 108–111

Gnatenko DV, Dunn JJ, McCorkle SR et al. (2003) Transcript profiling of human platelets using microarray and serial analysis of gene expression. Blood 101: 2285–2293

Gnatenko DV, Cupit LD, Huang EC et al. (2005) Platelets express steroidogenic 17beta-hydroxysteroid dehydrogenases. Distinct profiles predict the essential thrombocythemic phenotype. Thromb Haemost 94: 412–421

Goerttler PS (2005) Gene expression profiling in polycythaemia vera: overexpression of transcription factor NF-E2. Br J Haematol 129: 138–150

Hartwig D, Härtel C, Hennig H et al. (2002) Evidence for de-novo-synthesis of Zytokines and chemokines in platelet concentrates. Vox Sang 82: 182–190

Kieffer N, Guichard J, Farcet J-P et al. (1987) Biosynthesis of major platelet proteins in human blood platelets. Eur J Biochem 164: 189–195

Kim JA, Jung YJ, Seoh JY, Woo SY, Seo JS, Kim HL (2002) Gene expression profile of megakaryocytes from human cord blood CD34(+) cells ex vivo expanded by thrombopoietin. Stem Cells 20: 402–416

Lindemann S, Gawaz M (2007) The active platelet: translation and protein synthesis in an anucleate cell. Semin Thromb Hemost 33: 144–150

Lindemann S, Tolley ND, Eyre JR et al. (2001) Integrins regulate the intracellular distribution of eukaryotic initiation factor 4E in platelets. J Biol Chem 276: 33947–33951

Lockhart DJ, Dong H, Byrne MC et al. (1996) Expression monitoring by hybridization to high-density oligonucleotide arrays. Nat Biotechnol 14: 1675–1680

Macaulay IC, Tijssen MR, Thijssen-Timmer DC et al. (2007) Comparative gene expression profiling of in vitro differentiated megakaryocytes and erythroblasts identifies novel activatory and inhibitory platelet membrane proteins. Blood 109: 3260–3269

McRedmond JP, Park SD, Reilly DF et al. (2004) Integration of proteomics and genomics in platelets: a profile of platelet proteins and platelet-specific genes. Mol Cell Proteomics 3: 133–144

Newman PJ, Gorski J, White GC et al. (1988) Enzymatic amplification of platelet-specific messenger RNA using the polymerase chain reaction. J Clin Invest 82: 739–743

Novotny WF, Girard TJ, Miletich JP et al. (1988) Platelets secrete a coagulation inhibitor functionally and antigenically similar to the lipoprotein associated coagulation inhibitor. Blood 72: 2020–2025

Pabla R, Weyrich AS, Dixon DA et al. (1999) Integrin-dependent control of translation: engagement of integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ regulates synthesis of proteins in activated human platelets. J Cell Biol 144: 175–184

Panes O, Matus V, Saez CG et al. (2007) Human platelets synthesize and express functional tissue factor. Blood 109: 5242–5250

Pillitteri D, Bassus S, Boller K et al. (2007) Thrombin-induced interleukin 1β synthesis in platelet suspensions: impact of contaminating leukocytes. Platelets 18: 119–127

Raghavachari N, Xu X, Harris A et al. (2007) Amplified expression profiling of platelet transcriptome reveals changes in arginine metabolic pathways in patients with sickle cell disease. Circulation 115: 1551–1562

Rolf N, Knoefler R, Suttorp M et al. (2005) Optimized procedure for platelet RNA profiling from blood samples with limited platelet numbers. Clin Chem 51: 1078–1080

Rox JM, Bugert P, Müller J et al. (2004) Gene expression analysis in single donor platelets: Evaluation of a PCR-based amplification technique. Clin Chem 50: 2271–2278

Santoso S, Kalb R, Kiefel V et al. (1993) The presence of messenger RNA for HLA class I in human platelets and its capacity for protein biosynthesis. Brit J Haematol 84: 451–456

Schwertz H, Tolley ND, Foulks JM et al. (2006) Signal-dependent splicing of tissue factor pre-mRNA modulates the thrombogenicity of human platelets. J Exp Med 203: 2433–2440

Suehiro Y, Veljkovic DK, Fuller N et al. (2005) Endocytosis and storage of plasma factor V by human megakaryocytes. Thromb Haemost 94: 585–592

Tenedini E (2004) Gene expression profiling of normal and malignant CD34 derived megakyrocytic cells. Blood 104: 3126–3135

van Rhenen D, Gulliksson H, Cazenave JP et al. (2003) euroSPRITE trial. Transfusion of pooled buffy coat platelet components prepared with photochemical pathogen inactivation treatment: the euroSPRITE trial. Blood 101: 2426–2433

Velculescu VE, Zhang L, Vogelstein B et al. (1995) Serial analysis of gene expression. Science 270; 484–487

Weyrich AS, Dixon DA, Pabla R et al. (1998) Signal-dependent translation of a regulatory protein, Bcl-3, in activated human platelets. PNAS 95: 5556–5561

Wicki AN, Walz A, Gerber-Huber SN (1989) Isolation and characterization of human blood platelet mRNA and construction of a cDNA library in λgt11. Thromb Haemost 61: 448–453

Zillmann A, Luther T, Müller I (2001) Platelet-associated tissue factor contributes to collagen-triggered activation of blood coagulation. Biochem Biophys Res Commun 281: 603–609

# 5 Das thrombozytäre Proteom

*S. Lindemann*

## Einleitung

Die Analyse des thrombozytären Proteoms hat das Potenzial, die Thrombozytenbiologie zu revolutionieren, weil die Proteinbestandteile des Plättchens und deren Modifikation durch Stimulation und krankhafte Veränderung detailgenau studiert werden können. Dennoch sind der Proteomanalyse Grenzen gesetzt – trotz der Weiterentwicklung der bestehenden Methodik zeigen sich deutliche Limitationen. Daher ist es wichtig, neue Wege zu beschreiten und neue, z. B. gelfreie, Proteomanalysemethoden anzuwenden.

Auch die Analyse einzelner subzellulärer Kompartimente verspricht die bisherige häufig angewandte Analyse des Gesamtproteoms des Plättchens abzulösen. Zudem ist es wichtig, die Information, die uns die Proteomanalyse zur Verfügung stellt, mit anderen Methoden zu überprüfen und abzugleichen. Nur so wird es möglich sein, potenzielle Targets für eine verbesserte, besser wirksame und weniger nebenwirkungsreiche, da spezifischere antithrombotische Therapie zu finden.

## 5.1 Einführung

Der Ausdruck »Proteomanalyse« wird definiert als eine qualitative und quantitative Untersuchung des Proteingehaltes (Proteoms) einer Zelle, welcher aus dem Genom oder Transkriptom (Gesamtheit aller mRNA) dieser Zelle exprimiert wird. Idealerweise könnte uns die Proteomanalyse eine komplette Darstellung aller biologischen Prozesse liefern, aller biologischen Netzwerke und Mechanismen sowie sämtlicher Proteininteraktionen, die in einer Zelle oder einem Organismus stattfinden. Von dieser idealen Analyse sind wir jedoch noch weit entfernt. Allein die Darstellung aller Proteine eines Organismus, einer Zelle oder eines Zellkompartiments stellt uns derzeit noch vor große Probleme.

Das menschliche Proteom ist ein sehr komplexes Gefüge, welches von über 30.000 menschlichen Genen erzeugt wird. Allein das Transkriptom des Thrombozyten umfasst knapp 3.000 Transkripte, von denen jedoch nicht alle als Protein im Thrombozyten abgebildet sind. Jedoch ist es wahrscheinlich, dass der Thrombozyt auch Proteine enthält, deren mRNA nicht in seinem Trankriptom zu finden ist, da das Protein vom Thrombozyten später aufgenommen wurde oder von der Mutterzelle des Thrombozyten, dem Megakaryozyten stammt. Abgesehen davon ist das Proteom des Thrombozyten nicht als konstantes und stabiles System anzusehen, denn es wird durch zahlreiche Regulationsvorgänge, z. B. nach Stimulation durch lösliche Agonisten wie Thrombin oder auch durch Adhärenz an verschiedene Oberflächen, dauernd verändert.

Die Expression, Lokalisation, Modifikation und Interaktion thrombozytärer Proteine zu analysieren ist ein wissenschaftlicher Auftrag, der über die bloße Entschlüsselung des Genoms, welche als großer Schritt des letzten Jahrtausends betrachtet wird, weit hinausgeht. Trotz ihrer Limitationen bietet die Proteomanalyse bislang nicht gekannte Vorteile bei der Aufschlüsselung von biologischen und biochemischen Prozessen. Eine besondere Herausforderung besteht auch darin, dieses neue biologische Basiswissen in klinischen Anwendungsbereichen umzusetzen.

## 5.2 Die klassische Proteomanalyse

Die Schlüsseltechnologien der Proteomanalyse sind hochauflösende Proteinseparationstechniken, die mit einer leistungsfähigen Massenspektrometrie gekoppelt sind. Die massenspektrometrische Analyse bedient sich dabei moderner Datenbanken, welche die Routineidentifikation von Hunderten oder Tausenden von Proteinen innerhalb eines einzigen Experimentes ermöglichen. Die vorgeschaltete hochauflösende Proteinseparation wird als zweidimensionale Gelelektrophorese bezeichnet. Dabei werden Proteine nach ihrer relativen Molekülmasse und ihrem isoelektrischen Punkt (pI) zweidimensional separiert.

Die zweidimensionale Gelelektrophorese wird in 2 Abschnitte unterteilt: Der erste Abschnitt umfasst die Auftrennung in der ersten Dimension nach dem pI. Die Proteinmischung wird dabei auf einen Gelstreifen aufgetragen, der sich in einer Glasröhre befindet. Das eine Ende der Glasröhre ist an die Kathode angeschlossen, das andere Ende der Röhre an die Anode. Zwischen beiden Polen liegt eine Spannung zwischen 800 und 10.000 V. Um das Verfahren zu vereinfachen, wurden moderne Apparaturen entwickelt, bei denen sich dieser Gelstreifen auf einem Kunststoffstreifen befindet, der leicht in den Apparat eingespannt werden kann. Mithilfe dieser Apparaturen ist die Auftrennung von Proteinen nach dem pI sehr leicht geworden.

Nach der Separation wird der Gelstreifen auf ein SDS-(»sodium dodecyl sulfate«-)Polyacrylamidgel aufgelegt.

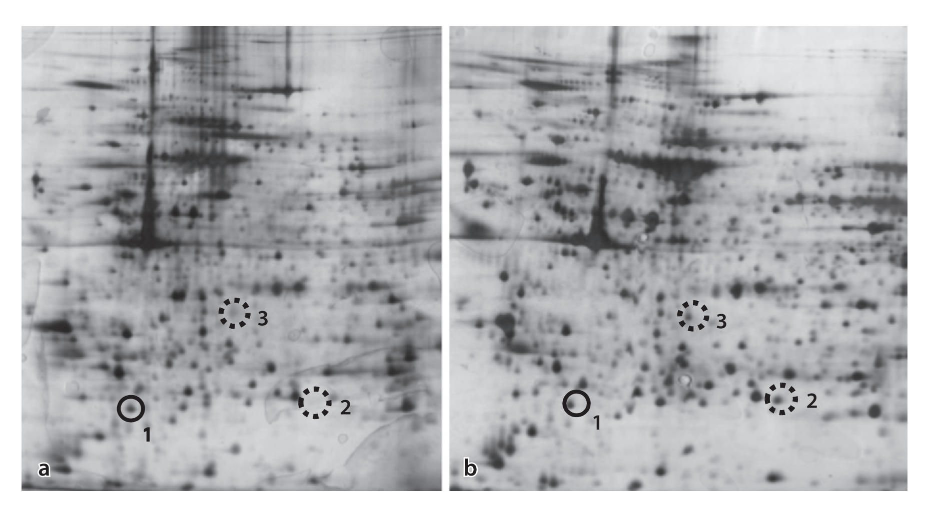



**Abb. 5.1a,b.** Proteomanalyse von aktivierten Thrombozyten. Thrombozyten wurden über 8 h mit Adenosindiphosphat stimuliert **(a)** oder an eine kollagenbeschichtete Oberfläche adhäriert **(b)** und anschließend in CHAPS-Puffer lysiert. Danach erfolgte die Auftrennung der Proteine in der ersten Dimension nach ihrer Ladung in Gelstreifen mit einem pH-Gradienten 3–10 (BioRad[R]). Die Gelstreifen der ersten Dimension wurden auf ein reguläres SDS-Gel (»sodium dodecyl sulfate«-Gel) geschichtet und dann die Proteine in der zweiten Dimension (PAGE, Polyacrylamid-Gelelektrophorese) nach ihrer relativen Molekülmasse aufgetrennt. Die Gele wurden mit Silbernitrat gefärbt und die markierten Spots 2 und 3 exzidiert, mit Trypsin verdaut und die Peptide mittels Massenspektrometrie identifiziert. *1–3* markierte Spots

Dann beginnt die Auftrennung nach der relativen Molekülmasse der zuvor nach dem pI separierten Proteine, wie das bei der klassischen SDS-PAGE (Polyacrylamid-Gelelektrophorese) üblich ist. Ist die Auftrennung im Gel nach pI und relativer Molekülmasse erfolgt, kann das Gel mit verschiedenen Methoden (Silberfärbung, Coomassie-Blau etc.) gefärbt werden. Verteilt auf dem Gel zeigen sich verschiedene Einzelpunkte mit einem Durchmesser von 1–5 mm, von denen jeder einem oder manchmal auch mehreren Proteinen entspricht. Diese Punkte werden nun exzidiert und mit Trypsin verdaut. Die daraus resultierenden Peptidgemische werden der Massenspektrometrie zugeführt. Die Massenspektrometrie mit einem LC-MS/MS-Massenspektrometer (»liquid chromatography with tandem mass spectrometry detection«) erlaubt eine zweifelsfreie Identifikation der Peptide. Durch den Vergleich mit Datenbanken ist in den allermeisten Fällen eine zweifelsfreie Identifikation des in dem exzidierten Spot enthaltenen Proteins möglich (Abb. 5.1).

Da auch Thrombozyten eine regulierte Proteinsynthese zeigen, ist in vielen Fällen die Analyse von neu synthetisierten Proteinen gerade in Thrombozyten besonders interessant. Um die Analyse zu ermöglichen, werden Thrombozyten unter den spezifischen zu untersuchenden Bedingungen mit an 35S gekoppeltem Methionin inkubiert. Die erste Aminosäure der meisten eukaryotischen Proteine ist ein Methionin. Daher wird bei der Proteinsynthese das mit radioaktivem Schwefel gekoppelte Methionin in die meisten neusynthetisierten Proteine eingebaut.

Anschließend werden die Zellen lysiert und über die oben beschriebene zweidimensionale Gelelektrophorese separiert. Das Gel wird getrocknet und auf einem Röntgenfilm 6 bis 24 Stunden exponiert. Die sich jetzt zeigenden Spots stellen lediglich die neu synthetisierten Proteine dar (Abb. 5.2). Der direkte Vergleich mit einem silber- oder coomassiegefärbten Gel kann diese Proteine mithilfe der Massenspektrometrie wie oben beschrieben identifizieren.

## 5.3 Proteomanalyse von thrombozytären Subkompartimenten

Zielproteine für die Entwicklung neuer pharmakologischer Produkte zur Kontrolle von Thrombozytenaktivierung und -aggregation sind häufig in spezifische Signaltransduktionskaskaden involviert. Diese Signalkaskaden sind durch Phosphorylierung ein- oder abgeschaltet. Viele Protein- und Lipidkinasen werden im Rahmen der Thrombozytenaktivierung und -adhäsion phosphoryliert, darunter auch Membranrezeptoren und zytosolische Tyrosinkinasen wie z. B. Syk und Src (Kramer et al. 1995; Clark et al. 1994; Saci et al. 2000). Um die dynamischen phosphotyrosinphosphorylierten Proteine zu untersuchen, werden diese zunächst durch Immunpräzipitation mithilfe eines phosphotyrosinspezifischen Antikörpers angereichert. Dadurch werden die Phosphoproteine, die nur in geringer Konzentration in Plättchen vorliegen, angereichert. Danach werden diese phosphotyrosinphosphorylierten Proteine mit der zweidimensionalen Gelelektrophorese

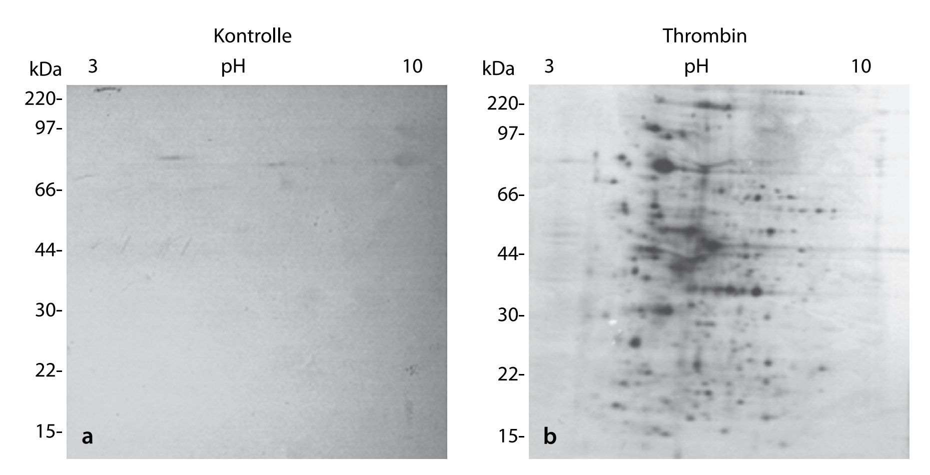



**Abb. 5.2a,b.** Selektive Proteomanalyse aktivierter Thrombozyten. Thrombozyten wurden über 18 h mit 0,01 U/ml Thrombin in Anwesenheit von 35S-Methionin aktiviert und dann in CHAPS-Puffer lysiert. Anschließend erfolgte die Auftrennung der Proteine in der ersten Dimension in einem pH-Gradienten 3–10 (BioRad$^R$). Die Gelstreifen der ersten Dimension wurden auf ein reguläres SDS-Gel (»sodium dodecyl sulfate«-Gel) geschichtet und dann die Proben nach ihrer relativen Molekülmasse aufgetrennt (PAGE, Polyacrylamid-Gelelektrophorese). Die Gele wurden getrocknet und eine Woche auf Kodak-MS$^R$-Film bei -80°C exponiert. **a** Kontrollthrombozyten, **b** Thrombozyten mit Thrombin aktiviert

und anschließenden Massenspektrometrie wie oben beschrieben separiert (Maguire u. Fitzgerald 2003; Maguire et al. 2004).

### 5.3.1 Charakterisierung der von Thrombozyten freigesetzten Proteine

Thrombozyten enthalten eine Menge präformierter, morphologisch unterschiedlicher Granula, z. B. α-Granula, Dense-Granula und Lysosomen, die zur Lagerung von Mediatoren dienen, welche im Rahmen der Plättchenaktivierung freigesetzt werden (Fukami et al. 2001). Viele so freigesetzte Proteine agieren in autokriner oder parakriner Art und Weise, um Signaltransduktionswege in Effektorzellen zu aktivieren – so z. B. Faktor XIII und der immunmodulator platelet basic protein (PBP) (Angelillo-Scherrer 200; Castor et al. 1989). Manche von Thrombozyten freigesetzten Chemokine werden in atherosklerotischen Plaques gefunden oder in das Plasma abgegeben, wie PF4 (Plättchenfaktor 4) und Interleukin-1ß (Huo et al. 2003). Diese von Thrombozyten freigesetzten Mediatoren tragen zu lokaler oder systemischer Inflammation bei. Obwohl diese Subgruppe von thrombozytären Proteinen von außerordentlicher biologischer Signifikanz ist, ist sie zum größten Teil nicht charakterisiert. Freigesetzte Proteine könnten als Targets für eine pharmakologische Therapie dienen. Bislang sind ca. 300 Proteine, die von Thrombozyten nach ihrer Aktivierung freigesetzt werden, identifiziert. Jedoch ist die Funktion nicht all dieser Proteine eindeutig belegt (Coppinger et al. 2004). 28% dieser Proteine mit unbekannter Funktion sind bislang in keiner anderen Zelle identifiziert worden und gehören zu den sogenannten EST (»expressed sequence tags«).

### 5.3.2 Proteomanalyse thrombozytärer »membrane lipid rafts«

»Membrane lipid rafts« sind spezielle Zellmembranuntereinheiten, die aus Cholesterol und Sphingolipiden bestehen (Simons et al. 1997). Diese Untereinheiten der Zellmembran muss man sich als biologische Plattformen vorstellen, die für verschiedene wichtige Zellfunktionen wie Signaltransduktion und Vesikeltransport zur Verfügung stehen. Auch Signaltransduktionswege wie die Interaktion von GP VI mit Kollagen und von GP Ib–XI–V werden über die »lipid rafts« weitergeleitet. Ebenso finden sich Membranproteine wie der thrombozytäre Scavenger-Rezeptor »cluster determinant« CD36 in diesen »lipid rafts« wieder. CD36 ist einer der Scavenger-Rezeptoren, der die Aufnahme von ox-LDL (»oxidized low density lipoprotein«) in das Plättchen reguliert (Daub 2006). Zur Analyse dieser »lipid raft«-assoziierten thrombozytären Proteine muss spezifisch dieses Kompartiment isoliert werden.

Das Prinzip der Isolation von »lipid rafts« besteht darin, dass sie in nichtionischen Detergenzien bei 4°C unlöslich sind. Diese detergenzienresistenten Membranproteine befinden sich in den oberen (d. h. niedrigprozentigen) Fraktionen eines Sucrosegradienten (Brown u. Rose 1992). Die so angereicherten Proteine werden dann über die oben beschriebene zweidimensionale Gelektrophorese aufgetrennt und massenspektrometrisch analysiert. Auf diese Weise konnten bislang über 100 Proteine aus den »lipid rafts« ak-

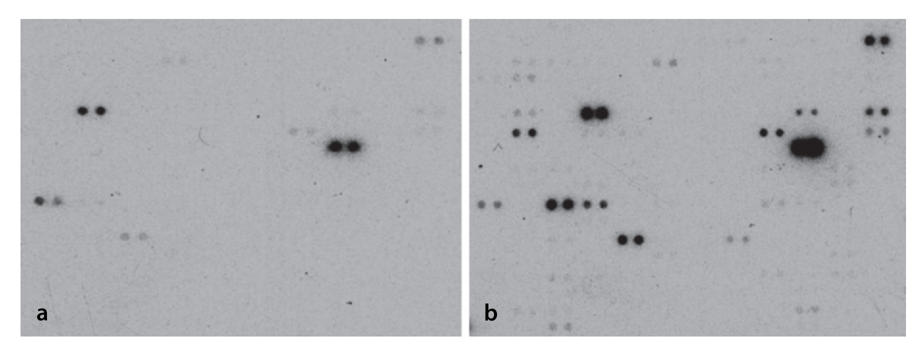



**Abb. 5.3a,b.** Translationsanalyse aktivierter Thrombozyten. Thrombozyten wurden über 30 min mit 0.01 IU/ml Thrombin und dann in RIPA-Puffer lysiert (RIPA = »radioimmunoprecipitation assay«). Anschließend erfolgte die Immunpräzipitation mit einem Antikörper gegen eIF4E (»eukaryotic translation initiation factor 4E«). Über eine modifizierte Phenol/Chloroformextraktion wurden die Messenger-RNA aus dem Präzipitat isoliert und mittels cDNA-Arrays semiquantitativ analysiert. Jedem Doppelpunkt entspricht eine spezifische mRNA. In thrombinstimulierten Thrombozyten sind mehr Messenger-RNA an eIF-4E gebunden. Nur an eIF-4E gebundene Messenger-RNA werden aktiv in Protein translatiert. **a** Unstimulierte Kontrollthrombozyten, **b** thrombinstimulierte Thrombozyten

tivierter Thrombozyten isoliert werden (Foster et al. 2003). Sie könnten ebenfalls potenzielle Targets für eine zukünftige antithrombotische Therapie darstellen.

### 5.3.3 Analyse thrombozytärer Mikropartikel

Thrombozyten können auf verschiedene Art und Weise aktiviert werden und setzen somit eine größere Zahl von Mikropartikeln frei. Die meisten im Plasma detektierten Mikropartikel sind thrombozytären Ursprungs (Berckmans 2001). Mit Interleukin-1β wurde erstmals ein Zytokin in aktivierten Thrombozyten identifiziert, welches in physiologisch relevanten Mengen über die thrombozytären Mikropartikel freigesetzt wird (Lindemann 2001a). Einige Jahre später wurde dann das Gesamtproteom thrombozytärer Mikropartikel systematisch mittels Massenspektrometrie analysiert (Garcia 2005).

Es wurden 578 Proteine identifiziert, von denen 380 bislang nicht im thrombozytären Proteom nachgewiesen werden konnten. Es wurde jedoch nicht überprüft, ob unterschiedliche Arten der Thombozytenstimulation zu unterschiedlichen Mikropartikeln mit einem spezifischen Proteom führen. Auch wurde darauf verzichtet, die massenspektrometrisch ermittelten Daten mit anderen Methoden zu überprüfen. Diese Tatsache ist nicht unerheblich, da Mikropartikel hochaktive Zellfragmente sind, die leicht an Leukozyten und Endothelzellen adhärieren und somit Membran- und andere Proteine dieser Zellen tragen könnten.

### 5.3.4 Analyse aktiv translatierter Proteine in Thrombozyten

Thrombozyten zeigen unter gewissen Bedingungen, dass sie konstitutive Messenger-RNA, die sie von ihrer Mutterzelle, dem Megakaryozyten, erhalten, aktiv in Protein translatieren können. Die Thrombozytenaktivierung führt zum Umbau des Zytoskeletts und zur Reorganisation bestimmter thrombozytärer Subkompartimente. In diesem aktivierungsabhängigen Umbau des Zytoskeletts werden Messenger-RNA und Translationsfaktoren aus verschiedenen Zellkompartimenten räumlich zusammengeführt, wodurch die Translation dann erfolgen kann.

Nicht aktivierte, ruhende Thrombozyten zeigen eine nur sehr geringe translationale Aktivität. Bei der Analyse der Messenger-RNA, die in Thrombozyten aktiv translatiert werden, machen wir uns folgenden Umstand zunutze: Während der Initiation der Proteinsynthese in Eukaryoten wird die Messenger-RNA, bevor sie mit Ribosomen interagieren kann, vom Translationsinitiationsfaktor eIF4E (»eukaryotic translation initiation factor 4E«) gebunden. Dabei bindet eIF4E an das Methyl-7-GTP an der Cap-Struktur der Messenger-RNA am 5'-Ende. Über eIF4E wird die Messenger-RNA an das Ribosom gebunden, und die Translation kann stattfinden.

Mit einem Antikörper gegen eIF4E kann somit eIF4E aus Thrombozytenlysaten und die an eIF4E gebundene Messenger-RNA immunpräzipitiert werden (Tenenbaum et al. 1997). Nach der Immunpräzipitation werden die Messenger-RNA isoliert und mittels RT-PCR (»reverse transcriptase polymerase chain reaction«) oder mithilfe von Arraytechniken analysiert (Lindemann et al. 2001a, Abb. 5.3a, b).

## 5.4 Alternative Methoden zur zweidimensionalen Gelelektrophorese

Die Identifikation und Quantifizierung von komplexen Proteinmischungen ist eine Aufgabe der modernen Proteomanalyse. Der klassische Weg solcher Proteomanalysen ist die zweidimensionale Gelelektrophorese mit anschlie-

ßender Massenspektrometrie. Nach inzwischen 30 Jahren hat sich herausgestellt, dass die zweidimensionale Gelelektrophorese einige methodisch bedingte Nachteile in sich trägt. So entziehen sich Proteine aus bestimmten Zellkompartimenten der Analyse. Dies sind insbesondere Proteine, die weniger als 100 bis 1.000 Kopien pro Zelle vorliegen. Sie bleiben in der großen Masse von Struktur- und Standardproteinen im sogenannten Background der Methode unentdeckt. Andere schwer zu identifizierende Proteine sind hydrophobe Membranproteine. Sie sind nicht nur schlecht zu isolieren, sondern neigen auch dazu – insbesondere nahe ihrem isoelektrischen Punkt – rasch zu präzipitieren und sich damit der Analyse zu entziehen.

Einige Arbeitsgruppen haben daher gelfreie Proteomanalysetechniken implementiert. Dabei wird eine Proteinmischung nicht mehr mittels 2-D-Gelelektrophorese aufgetrennt, sondern unmittelbar mithilfe einer spezifischen Protease (meistens Trypsin) verdaut. Daraus entsteht eine hochkomplexe Peptidmischung, die aus vielen Zehntausenden Einzelpeptiden besteht. Das bislang größte Problem war, dass die derzeit gebauten Massenspektrometer nicht in der Lage sind, diese hohe Menge an Peptiden zu analysieren. Es werden derzeit 2 verschiedene Lösungsansätze für dieses Problem getestet: Die ICAT-Technik (»isotope coded affinity tagging«) und COFRADIC (»combined fractional diagonal chromatography«).

### 5.4.1 Proteomanalyse mit der ICAT-Technologie

Die Tücken der klassischen Proteomanalyse werden von der ICAT-Technik elegant umgangen. Die Proteine von beispielsweise ruhenden und aktivierten Thrombozyten werden extrahiert und reduziert, sodass freie Thiolgruppen an der Aminosäure Cystein entstehen, die nahezu in allen Proteinen enthalten ist. Zu der Probe aus den nicht aktivierten Thrombozyten wird das ICAT-Reagenz-1 gegeben. Es besteht aus einer thiolreaktiven Gruppe, die über einen Spacer mit einem Biotinmolekül verbunden ist. Dieses ICAT-Reagenz bindet an die Aminosäure Cystein. Zur zweiten Probe aus den aktivierten Thrombozyten wird ICAT-Reagenz-2 gegeben. Dieses unterscheidet sich vom ICAT-Reagenz-1 nur dadurch, dass es mit dem schwerem Wasserstoffisotop Deuterium markiert ist.

Die beiden Proben von nicht aktivierten und aktivierten Thrombozyten werden nun gemischt und mit einem Trypsinverdau in Peptide zerlegt. Über eine Avidinsäule werden die an Bioptin gekoppelten ICAT-markierten Peptide der komplexen Mischung entzogen und mittels Massenspektrometrie analysiert. Dabei wird die klassische TOF-(Time-of-Flight-)Massenspektrometrie angewendet, die mit Deuterium markierten Peptide zeigen sich als leicht verschobene Peptidpeaks. Ein Vergleich der Intensitäten der zusammengehörigen Signale erlaubt eine Aussage darüber, ob die zugehörigen Proteine der beiden Proben unterschiedlich stark exprimiert wurden. Die ICAT-Methode bietet die Möglichkeit, auch sehr gering exprimierte Proteine in verschiedenen Zuständen quantitativ zu analysieren (Gygi et al. 1999).

### 5.4.2 Proteomanalyse mit der COFRADIC-Technologie

Die Ursprünge der COFRADIC-Technik gehen auf das Jahr 1966 zurück, als Brown und Hartley die diagonale Papierelektrophorese publizierten (Brown u. Hartley 1966). Diese Methode erlaubte die Charakterisierung von Disulfidbrücken im Protein Chymotrypsin A des Rindes. Dieser Ansatz war einfach und genial: Nach einer elektrophoretischen Auftrennung der Peptidmixtur mithilfe eines Chromatographiepapiers wurden die Peptide Dämpfen von Per-Ameisensäure ausgesetzt, welche freies Cystein zu Cysteinsäure konvertiert. Somit erhielten alle Peptide, die ein Cystein enthielten, eine zusätzliche negative Ladung. Nun wurde das Chromatographiepapier um 90° gedreht, und die Peptide orientierten sich neu in dem jetzt um 90° gedrehten elektrischen Feld. Die Peptide, die kein Cystein enthielten, zeigten die gleiche Wanderungsbewegung wie in der ersten Auftrennung, während die Peptide mit Cysteinresten aufgrund ihrer zusätzlichen negativen Ladung nun schneller in Richtung der positiven Elektrode wanderten.

Der Haupteffekt dieser Methode war, dass die Nicht-Cysteinpeptide nun in einer diagonalen Linie über das Chromatographiepapier wanderten, während sich die Cysteinpeptide außerhalb dieser diagonalen Linie bewegten. Mit dieser Methode konnten auch Peptide isoliert werden, die ein Amino- oder Methionylende hatten, Tryptophan enthielten, tyrosinolisiert oder phosphoryliert waren. Mithilfe einer repititiven HPLC-Fraktionierung (»high performance liquid chromatography«) wurde diese Methode von Gevaert für die Proteomanalyse weiterentwickelt (Gevaert et al. 2003, 2004).

Zusammengefasst sieht das COFRADIC-Protokoll wie folgt aus:

- 1. Schritt: Die Proteine werden mit TCEP (Trichlorethylphosphat) reduziert.
- 2. Schritt: Die freien Cysteine werden mit Ellmann-Reagenz [5,5'-Dithiobis(2-Nitrobenzolsäure)] modifiziert. Dadurch wird eine Nitrobenzolgruppe an das Cystein gebunden.
- 3. Schritt: Die modifizierten Proteine werden verdaut.
- 4. Schritt: Die Peptidmixtur wird zum ersten Mal mittels HPLC aufgetrennt.
- 5. Schritt: Viele Primärfraktionen werden zusammengefasst und mit TCEP reduziert.

- 6. Schritt: Die Nitrobenzolgruppe wird wieder entfernt und die Cystein-Peptide zeigen einen hydrophilen Shift, der mittels MS/MS-Analyse quantitativ analysiert werden kann.

## 5.5 Probleme der Proteomanalyse von Thrombozyten

Alle Methoden der Proteomanalyse zeichnen sich durch eine große Anzahl von Fehlerquellen aus, die die Forschung behindern oder in falsche Richtungen lenken kann. Diese Fehlerquellen bestehen in der Isolation der Thrombozytenprobe, der Probenkontamination, der Peptidanalyse und der Datenbankanalyse. Für jegliche Interpretation einer Proteomanalyse muss man die verschiedenen methodischen Aspekte der Thrombozytenisolation und der weiteren Analysen mitbetrachten. Insbesondere für die Analyse des thrombozytären Proteoms ist das von besonderer Wichtigkeit, weil es für Thrombozyten große Mengen an Daten gibt, mit denen nachgewiesen wurde, dass Thrombozyten bei Atherosklerose und Inflammation eine wichtige Rolle spielen. Außerdem sind Thrombozyten ein ideales Forschungsobjekt, weil sie einfach zu erhalten und zu isolieren sind. Folgende Fehlerquellen können auftreten (Watson et al. 2005).

### 5.5.1 Thrombozytenisolation und die damit verbundene Thrombozytenaktivierung

Es ist wichtig, das Ausmaß der Thrombozytenaktivierung im Rahmen der Blutentnahme und Isolation so weit wie möglich zu senken. Insbesondere sollte man vorsichtig sein, wenn Prostazyklin oder andere cAMP-relevante Agenzien (cAMP: zyklisches Adenosinmonophosphat) während der Isolationsprozedur benutzt werden, weil dies zur Aktivierung bestimmter Signaltransduktionskaskaden und zur Phosphorylierung mancher Proteine führt.

### 5.5.2 Proteinextraktion

Alle experimentellen Schritte sollten so schnell wie möglich durchgeführt werden, um die Degradation von einzelnen Proteinen möglichst zu verhindern. Außerdem sollten verschiedene Mischungen von Proteaseinhibitoren verwendet werden.

### 5.5.3 Reinheit der Thrombozytenisolation

Der Grad der Kontamination der Thrombozytenprobe mit anderen Zelltypen wie Leukozyten sollte auf ein Minimum reduziert sein. Dies ist insbesondere dann wichtig, wenn Proteine untersucht werden, die nur in geringen Mengen exprimiert werden. Der Grad der Kontamination ist auch wichtig, wenn geplant ist, PCR-basierte Techniken zur Messenger-RNA-Identifikation in Thrombozyten zu verwenden. Mithilfe von gewebespezifischen Genen kann die Reinheit der Thrombozytenisolation überprüft werden (Lindemann et al. 2001a).

### 5.5.4 Endogene und exogene thrombozytenassoziierteProteine

Thrombozyten haben die Fähigkeit mithilfe von Oberflächenrezeptoren oder Endozytose Proteine aus dem sie umgebenden Medium aufzunehmen. Außerdem können Plasmaproteine auf der Thrombozytenoberfläche anhaften. Faktoren während der Thrombozytenisolation (z. B. Puffer) können somit die Zusammensetzung des thrombozytären Proteoms verändern und müssen vom Untersucher mit in Betracht gezogen werden.

### 5.5.5 Peptidsequenzanalyse

Die Irrtumswahrscheinlichkeit der Peptidsequenzanalyse ist relativ gering, sie beträgt etwas unter 5% (Garcia et al. 2004). Durch manuelle Überwachung der Frequenzanalyse und durch zusätzliche Informationen wie relative Molekülmasse und isoelektrischer Punkt eines Proteins kann dieser Fehler weiter reduziert werden. Außerdem besteht die Möglichkeit von Splicing-Varianten, welche in den Datenbanken häufig nicht adäquat abgebildet sind.

### 5.5.6 Proteindatenbanken

Bei der Proteomanalyse besteht auch eine gewisse Fehlerwahrscheinlichkeit für die Suche in Proteindatenbanken wie NCBI, TREMBL, SWISS-PROT. So sind z. B. nicht alle Proteine in allen Datenbanken aufgeführt, und die Datenbanken selbst enthalten auch einige Fehler, trotz der ständigen Bemühungen diese Fehler zu beseitigen. In den meisten Datenbanken sind Faktoren wie alternatives Splicing, Polymorphismen und posttranslationale Veränderungen nicht berücksichtigt.

Insgesamt sind Ergebnisse aus thrombozytären Proteomanalysen mit Vorsicht zu interpretieren. Die Expression eines Proteins unter bestimmten Bedingungen ist

durch andere Methoden zu kontrollieren und zu belegen. Für hochexprimierte Proteine ist das kein besonderes Problem. Bei den niedrig exprimierten Proteinen sind aber besondere Vorsichtsmaßnahmen anzuwenden. Es gilt jedoch als sicher, dass ein Protein, welches durch mehr als 8 Peptide abgebildet wird, als eindeutig identifiziert betrachtet werden kann.

## 5.6 Empfehlungen für die thrombozytäre Proteomanalyse



Die folgenden Empfehlungen sind dem Bericht der internationalen Gesellschaft für Thrombose und Hämostase entnommen (Watson et al. 2005). Die Notwendigkeit solcher Empfehlungen wurde von der Arbeitsgruppe für Publikationsrichtlinien von Peptid- und Proteinidentifikationsdaten festgestellt (Carr et al. 2004). Neu gewonnene Daten zur Expression thrombozytärer Proteine sollten in Datenbanken nach folgenden Kriterien zugänglich gemacht werden:

**Thrombozytäre Proteine, die eine funktionelle und regulatorische Bedeutung in Thrombozyten haben.** Eine große Anzahl von Proteinen spielt eine bekannte Rolle in der Thrombozytenbiologie, unabhängig davon, ob sie über eine Proteomanalyse identifiziert wurden oder nicht. Sichere Daten wurden durch Knockout-Mäuse, spezifische pharmakologische Wirkstoffe und andere Methoden zweifelsfrei belegt. Solche Proteine sind z. B. die G-Protein-gekoppelten Rezeptorproteine und Signaltransduktionsproteine.

**Proteine mit bislang unbekannter Funktion, deren Expression jedoch zweifelsfrei im Thrombozyten bekannt und dokumentiert ist.** Die Expression dieser Proteine wurde durch Proteinbiochemie und verwandte Techniken wie Durchflusszytometrie und Radioliganden-Bindungsstudien in Thrombozyten zweifelsfrei nachgewiesen, auch wenn deren Funktion bislang unklar ist. Diese Gruppe von Proteinen ist in den meisten Fällen von der Mutterzelle des Thrombozyten, dem Megakariozyten, weitergegeben worden. Manche dieser Proteine haben keine oder eine noch nicht bekannte Funktion, wie z. B. Transkriptionsfaktoren.

**Proteine, die nur über die Proteomanalyse oder PCR-basierte Techniken identifiziert wurden.** Diese größte Gruppe von Proteinen wurde lediglich durch proteomische oder genomische Technologien belegt. In vielen Fällen werden weitere Informationen benötigt (z. B. Western Blot, Durchflusszytometrie u. a.), die zweifelsfrei belegen, dass das gefundene Protein ein thrombozytäres Protein darstellt. Auch sollten Funktionsanalysen durchgeführt werden.


### Danksagung

Ich danke Herrn Dr. Tilo Grosser, University of Pennsylvania, USA, und Herrn Dr. Tobias Lamkemeyer, Proteom Centrum Tübingen, für die kritische Durchsicht des Manuskripts. Frau Melanie Hartmann danke ich für die Hilfe bei der Manuskripterstellung. Ich danke der American Heart Association und der Deutschen Forschungsgemeinschaft sowie der lokalen Forschungsförderung der Universitäten Mainz (MAIFOR) und Tübingen (Fortüne) für die Unterstützung meiner bisherigen Arbeit. Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. A. S. Weyrich und Herrn Prof. G. A. Zimmerman aus Salt Lake City für die Begeisterung für die thrombozytäre Biologie, mit der sie mich angesteckt haben.


### Literatur


Angelillo-Scherrer A, Burnier L, Flores N et al. (2005) Role of Gas6 receptors in platelet signaling during thrombus stabilization and implications for antithrombotic therapy. J Clin Invest 115: 237–246

Berckmans RJ, Neiuwland R, Böing AN et al. (2001) Cell-derived microparticles circulate in healthy humans and support low grade thrombin generation. Thromb Haemost. 85: 639–46

Brown JR, Hartley BS (1966) Location of disulphide bridges by diagonal paper electrophoresis. The disulphide bridges of bovine chymotrypsinogen A. Biochem J 101: 214–2

Brown DA, Rose JK (1992) Sorting of GPI-anchored proteins to glycolipid-enriched membrane subdomains during transport to the apical cell surface. Cell 68: 533–544

Carr S, Aebersold R, Baldwin M et al. (2004) The need for guidelines in publication of peptide and protein identification data. Mol Cell Proteomics 3: 531–533

Clark EA, Shattil SJ, Ginsberg MH (1994) Regulation fo the protein tyrosine kinase pp72syk by platelets agonists and the integrin alpha IIb beta 3. J Biol Chem 269: 28859–28864

Castor CW, Walz DA, Ragsdale CG et al. (1989) Connective tissue activation. XXXIII. Biologically active cleavage products of CTAP-III from human platelets. Biochem Biophys Res Commun 163: 1071–1078

Coppinger JA, Cagney G, Toomey S et al. (2004) Characterization of the proteins released from activated platelets leads to localization of novel platelet proteins in human atherosclerotic lesions. Blood 103: 2096–2104

Daub K, Langer H, Seizer P et al. (2006) Platelets induce differentiation of human CD34+ progenitor cells into foam cells and endothelial cells. FASEB J 20: 2559–61

Foster LJ, De Hoog CL, Mann M (2003) Unbiased quantitative proteomics of lipid rafts reveals high specificity for signaling factors. Proc Natl Acad Sci USA 100(10): 5813–5818

Fukami H, Holmsen H, Kowalska M et al. (2001) Platelet Secretion. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ et al. (eds) Haemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical practice, 4th edn. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia PA, pp 561–574

Garcia A, Prabhakar S, Brock CJ et al. (2004) Extensive analysis of the human platelet proteome by two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry. Proteomics 4: 656–668

Gorg A, Obermaier C, Boguth G et al. (2000) The current state of two-dimensional elektrophoresis with immobilized pH gradients. Electrophoresis 21: 1037–1053

Gevaert K, Goethals M, Martens L et al. (2003) Exploring proteomes and analyzing protein processing by mass spectrometric identification of sorted N-terminal peptides. Nat Biotechnol 21: 566–569

Gevaert K, Ghesquiere B, Staes A et al. (2004) Reversible labeling of cysteine-containing peptide allows their specific chromatographic isolation for non-gel proteome studies. Proteomics 4: 897–908

Griffin TJ, Aebersold R (2001) Advances in proteome analysis by mass spectrometry. J Biol Chem 276: 45497–45500

Gygi SP, Rist B, Gerber SA et al. (1999) Quantitative analysis of complex protein mixtures using isotope-coded affinity tags. Nat Biotechnol 10: 994–999

Hochstrasser DF, Sanchez JC, Appel RD (2002) Proteomics and ist trends facing nature´s complexity. Proteomicds 2: 807–812

Huo Y, Schober A, Forlow SB et al. (2003) Circulating activated platelets exacerbate atherosclerosis in mice deficient in apolipoprotein E Nat Med 9: 61–67

Kramer RM, Roberts EF, Strifler BA (1995) Thrombin induces activation of p38 MAP kinase in human platelets. J Biol Chem 270: 27395–27398

Lindemann S, Tolley ND, Dixon DA et al. (2001a) Activated platelets mediate inflammatory signaling by regulated interleukin 1beta synthesis. J Cell Biol 154: 485–490

Lindemann S, Tolley ND, Eyre JR et al. (2001b) Integrins regulate the intracellular distribution of eukaryotic initiation factor 4E in platelets. A checkpoint for translational control. J Biol Chem 276: 33947–33951

Link AJ, Eng J, Schieltz DM et al. (1999) Direct analysis of protein complexes using mass spectrometry. Nat Biotechnol 17: 676–682

Locke D, Chen H, Liu Y et al. (2002) Lipid rafts orchestrate signaling by the platelet receptor glycoprotein VI. J Biol Chem 277: 18801–18809

Maguire PB, Fitzegerald DJ (2003) Platelet proteomics. J Thromb Haemost 1: 1593–1601

Maguire PB, Wynne KJ, Harney DF et a. (2002) Identification of the phosphotyrosine proteome from thrombin activated platelets proteomics 2: 642–648

Maguire PB, Moran N, Cagney G et al. (2004) Application of proteomics to the study of platelet regulatory mechanisms. Trends Cardiovasc Med 14: 207–220

Saci A, Rendu F, Bachelot-Loza C (2005) Platelet alpha IIb-beta 3 integrin induces the tyrosin phosphorylation of cb1 and ist association with phosphoinositide 3-kinase and syk. Biochem J 351: 669–676

Santos MT, Moscardo A, Valles J et al. (2000) Participation of tyrosine phosphorylation in cytoskeletal reorganization, alpha(IIb)beta(3) integrin receptor activation, and spirin-insensitive mechanismen of thrombin-stimulated human platelets. Circulation 102: 1924–1930

Shrimpton CN, Borthakur G, Larrucea S et al. (2002) Localization of the adhesion receptor glyoprotein Ib-IX-V complex to lipid rafts in required for platelet adhesion and activation. J Exp Med 196: 1057–1066

Simons K, Ikonen E (1997) Functional rafts in cell membranes. Nature 387: 569–572

Tenenbaum SA, Carson CC, Lager PL et al. (1997) Identifying mRNA subsets in messenger ribonucleoprotein complexes by using cDNA arrays. Proc Natl Acad Sci 26: 14085–14090

Watson SP, Bahou WF, Fitzgerald D et al. (2005) Mapping the platelet proteome: a report of the ISTH Platelet Physiology Subcommittee. J Thromb Haemost. 3: 2098–2101

Williams KL, Hochstrasser DF (1998) Introduction to the proteome. In: Wilkins MR, Williams KL, Appel RD et al. (eds) Proteome Research: New Frontiers in Functional Genomics, vol 1. Heidelberg: Springer, pp 1–12

# 6 Thrombozytenadhäsion und -aggregation

*H. F. Langer, M. Gawaz*

## Einleitung

Die physiologische Funktion von Thrombozyten ist die Blutstillung. Dies erfordert die Adhäsion an eine alterierte vaskuläre Oberfläche und eine schnelle zelluläre Aktivierung, welche eine Anreicherung des wachsenden Thrombus mit weiteren Thrombozyten und Fibrin ermöglicht. Andererseits können Thrombozyten durch Thrombusbildung in erkrankten Arterien zum Verschluss von Arterien, zur Ischämie und Gewebeschädigung beitragen. Das Gleichgewicht zu halten zwischen kontinuierlichem Blutfluss und schneller Thrombusformation ist eine Schlüsselfunktion, die den Endothelzellen zukommt. Durch Dysfunktion des vaskulären Endothels oder Diskontinuität mit Freilegung subendothelialer Matrix kommt es zur Thrombusbildung. Die thrombozytäre Reaktion entsteht in einer Kaskade verschiedener komplexer und miteinander interagierender Einzelschritte.



## 6.1 Vermittelnde Rezeptoren

Im Gegensatz zu anderen Zellen weisen Thrombozyten keinen Zellkern auf und können daher nicht mit exzessiver De-novo-Proteinsynthese auf ihre Umwelt reagieren, obwohl kürzlich der Nachweis von Proteinsynthese mittels Messenger-RNA (mRNA) in Thrombozyten erbracht wurde (Lindemann et al. 2001). Daher sind Thrombozyten mit einer Fülle verschiedener Proteine ausgestattet, die es ihnen erlaubt, adäquat auf die unterschiedlichen (patho-)physiologischen Anforderungen zu reagieren. Eines der Charakteristika der Thrombozyten ist die Vielzahl von Oberflächenrezeptoren, die zum Teil in den Granula der Thrombozyten gespeichert sind und die nötigenfalls schnell an der Oberfläche präsentiert werden können (Abb. 6.1).

### 6.1.1 Integrine

Integrine sind Adhäsionsrezeptoren, die Strukturen des Zytoskeletts mit der extrazellulären Matrix verknüpfen (Hynes 1992). Sie stellen nichtkovalent verbundene Heterodimere dar, die aus einer α- und einer β-Untereinheit bestehen, interagieren mit zahlreichen Glykoproteinen (z. B. Kollagen, Fibronektin, Fibrinogen, Laminin, Thrombospondin, Vitronektin, Von-Willebrand-Faktor), vermitteln die

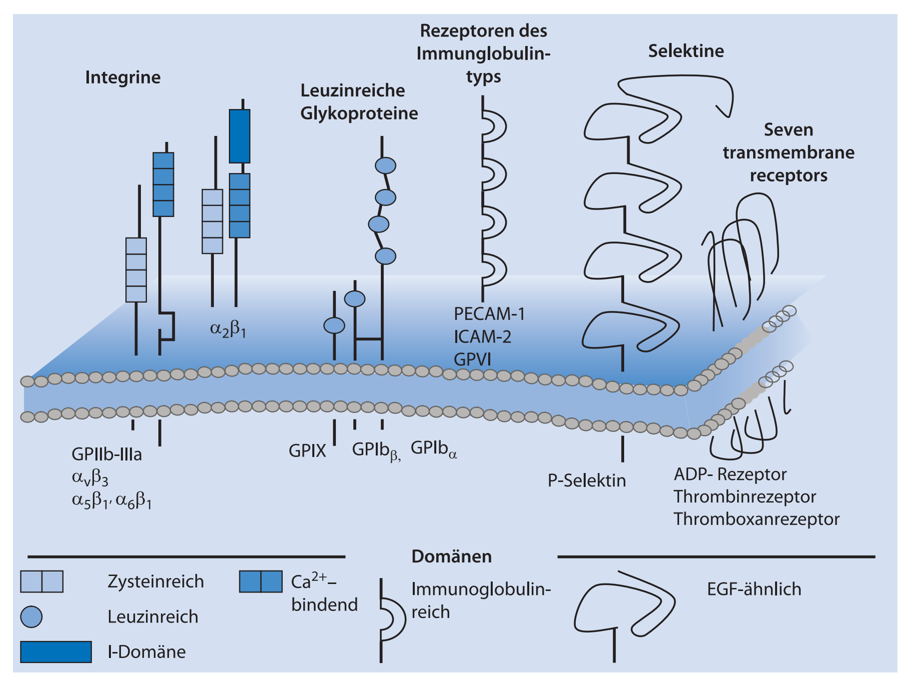



**Abb. 6.1.** Zentrale thrombozytäre Rezeptoren. $\alpha_v\beta_3$ /, $\alpha_2\beta_1$ /, $\alpha_5\beta_1$ /, $\alpha_6\beta_1$ thrombozytäre Integrine; *ADP* Adenosindiphosphat; *EGF* »epidermal growth factor«; *GP* Glykoprotein; *ICAM-2* »intercellular cell adhesion molecule-2«; *PECAM-1* »platelet-endothelial cell adhesion molecule-1«

thromboztäre Aggregation und tragen zur Differenzierung und zur Entwicklung von Geweben bei. Auf Thrombozyten sind 5 verschiedene Integrine beschrieben worden, 3 der $\beta_1$-Gruppe und 2 der $\beta_3$-Gruppe. Die $\beta_1$- und $\beta_3$-Integrine erkennen die Aminosäuresequenz Arginin-Glycin-Aspartat (RGD), die sich in Proteinen der extrazellulären Matrix, inklusive Fibrinogen, findet.

### 6.1.2 Leucinreiche Rezeptoren

Der wichtigste Vertreter der Familie der leucinreichen Rezeptoren in Thrombozyten ist der GP-Ib-IX-V-Komplex, der zweithäufigste Rezeptor auf Thrombozyten (nach dem Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ = GP Ib-IIIa). Er formt einen Adhäsionskomplex für Von-Willebrand-Faktor (vWF) und spielt eine zentrale Rolle in der primären Hämostase. Trotz hoher Scherkräfte, die im arteriellen Fluss herrschen, kann GP Ib-IX-V eine starke Interaktion mit auf Kollagenfasern immobilisiertem vWF herstellen. Fehlen oder Fehlfunktion desselben führt zum Erscheinungsbild des Bernard-Soulier-Syndroms, der zweithäufigsten Blutungsanomalie, die mit einem Thrombozytenrezeptor verbunden ist.

### 6.1.3 Rezeptoren des Immunglobulintyps

Die Rolle der Immunglobulintyprezeptorfamilie steht derzeit im Fokus angestrengter Untersuchungen. Neben »intercellular cell adhesion molecule-2« (ICAM-2) und »platelet-endothelial cell adhesion molecule-1« (PECAM-1), die in der Interaktion von Thrombozyten mit Leukozyten eine Rolle spielen, hat sich vor allem Glykoprotein VI (GP VI), einer der beiden zentralen thrombozytären Kollagenrezeptoren, als zentraler Rezeptor für die Plättchenadhäsion und -funktionalität herausgestellt. Er könnte einen potenziellen Angriffspunkt für neue diagnostische und therapeutische Substanzen darstellen (Massberg et al. 2003; Nieswandt u. Watson 2003). Daher werden dieser Rezeptor und seine Bedeutung für kardiovaskuläre Erkrankungen in ► Kap. 8 noch im Detail erläutert.

### 6.1.4 Selektine

Die Selektine sind eine wichtige Gruppe von Adhäsionsrezeptoren auf Thrombozyten (P-Selektin), Endothel (E- und P-Selektin) und Lymphozyten (L-Selektin). Nach Thrombozytenaktivierung wird P-Selektin schnell freigesetzt und auf der Oberfläche exprimiert. Selektine vermitteln multiple, transiente, schwache Interaktionen mit Liganden, wodurch die Etablierung einer stabilen Bindung über weitere beteiligte Rezeptoren und Liganden ermöglicht wird.

### 6.1.5 Verschiedene transmembrane Rezeptoren (»seven transmembrane receptors«)

Die Familie der sogenannten »seven transmembrane receptors« beinhaltet die wichtigsten Rezeptoren für thrombozytäre Aktivatorproteine, wie den Thrombinrezeptor, die Prostaglandinrezeptoren und die ADP-(Adenosindiphosphat-)Rezeptoren. Durch die Bindung von Thrombin können Thrombozyten über einen G-Protein-gekoppelten Mechanismus aktiviert werden. Thrombozytenaktivierung durch ADP spielt eine Schlüsselrolle bei der Entwicklung und Pathogenese der Atherothrombose, und daher sind diese Mechanismen von besonderer Bedeutung für Pharmazie und Medizin (Gachet 2006). Nach derzeitigem Wissen sind Thrombozyten die einzigen Zellen, die ADP-spezifische Purinorezeptoren wie den $P2Y_1$-und den $P2Y_{12}$-Rezeptor exprimieren.

## 6.2 Initiierung

Bei Verletzung eines Gefäßes, wie zum Beispiel der Ruptur einer atherosklerotischen Plaque, kommt es zur Diskontinuität der Endothelbarriere sowie zur Freilegung der thrombogenen subendothelialen Matrix. Blutplättchen sind die ersten zellulären Komponenten, die über einen komplexen Prozess interagierender Einzelschritte, die primäre Hämostase(◘ Abb. 6.2), einen solchen Defekt decken (Gawaz et al. 2004). Unter physiologischen Bedingungen adhärieren Thrombozyten nicht an intaktes Endothel (◘ Abb. 6.2a). Bei Diskontinuität der Endothelzellmonolayer kommt es zur Freilegung subendothelialer Matrixproteine wie Kollagen und vWF. Mittels der membranösen Adhäsionsrezeptoren GP Ib und GP VI gehen die Thrombozyten einen initialen Kontakt mit dem Subendothel ein (◘ Abb. 6.2b). Dieser Kontakt führt zu einer Aktivierung der thrombozytären Integrine $\alpha_{IIb}\beta_3$ (Fibrinogenrezeptor) und $\alpha_2\beta_1$ (Kollagenrezeptor). Die Interaktion von $\alpha_{IIb}\beta_3$ und $\alpha_2\beta_1$ mit extrazellulären Matrixproteinen resultiert in einem »spreading« und fester Adhäsion der Thrombozyten (◘ Abb. 6.2c). In der Folge degranulieren die Blutplättchen und rekrutieren weitere Thrombozyten an die bereits adhärenten Thrombozyten (◘ Abb. 6.2d). Die Thrombozyten formen Mikroaggregate über Fibrinogenbrücken zwischen den GP-IIb-IIIa-Rezeptoren (◘ Abb. 6.2e). Die Formation von Mikropartikeln im Bereich der Thrombozytenaggregate katalysiert die Entstehung von Thrombin und damit von Fibrin, das den wachsenden Thrombus stabilisiert (◘ Abb. 6.2f).

Membranrezeptoren, die unabhängig von einer zellulären Aktivierung funktionieren, vermitteln typischerweise den initialen Kontakt von zirkulierenden Thrombozyten

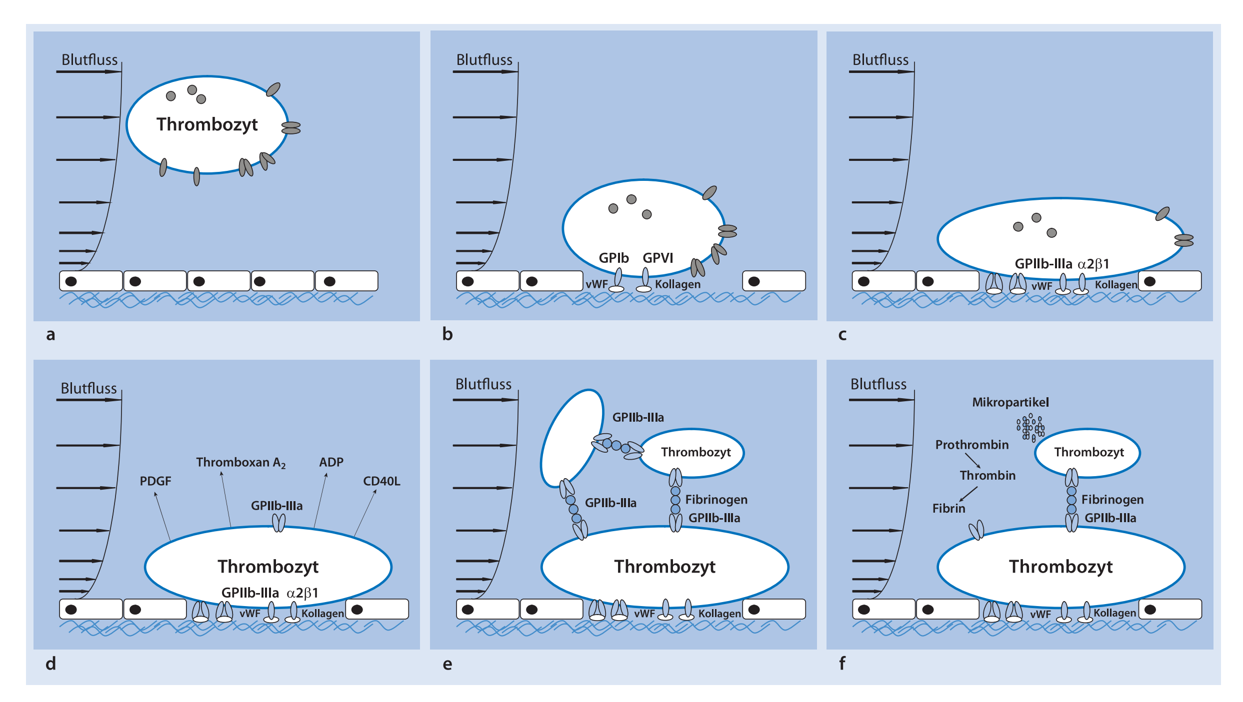



**Abb. 6.2a–f.** Thrombozytenabhängige Thrombusformation. *$\alpha_2\beta_1$ / $\alpha_{IIb}\beta_{III}$* thrombozytäre Integrine; *GP* Glykoproteine; *PDGF* »platelet derived growth factor«; *vWF* Von-Willebrand-Faktor

mit der alterierten Gefäßwand. Zahlreiche Studien konnten zeigen, dass dieser initiale Kontakt, das sogenannte »tethering«, durch Interaktion des thrombozytären Rezeptors GP Ib-V-IX mit kollagengebundenem vWF vermittelt wird. Neuere Erkenntnisse zeigen weiterhin, dass GP VI, der thrombozytäre Kollagenrezeptor, eine entscheidende Rolle bei dieser frühen Bindung an Kollagen spielt (Massberg et al. 2003). Anders als GP Ib-V-IX vermittelt es direkt die Adhäsion an subendotheliales Kollagen und die Aktivierung weiterer Adhäsionsrezeptoren wie GP IIb-IIIa und $\alpha_2\beta_1$. Die Reaktion von Thrombozyten auf Kollagen wird durch das PECAM-1 als negativer Regulator kontrolliert, sodass es zu keiner überschießenden Aggregation kommt (Patil et al. 2001).

## 6.3 Feste Adhäsion

Integrine sind für eine feste Adhäsion von Thrombozyten essenziell. Wärend $\alpha_2\beta_1$ direkt an Kollagen bindet, vermittelt der GP-IIb-IIIa-Rezeptor eine irreversible Adhäsion durch die Bindung an eine RGD-Sequenz in der C1-Domäne von vWF. Die feste integrinvermittelte Adhäsion führt zur weiteren Aktivierung sowie zur Formänderung der Thrombozyten, dem sogenannten Shape-Change. Dabei bilden die Blutplättchen Pseudopodien, die einen effektiven Verschluss der Gefäßläsion erlauben. Weiterhin kann die Adhäsion durch Bindung an immobilisiertes Fibrin oder Fibrinogen, das nicht konstitutiv in der extrazellulären Matrix vorhanden ist, vermittelt werden (Ruggeri 2002). Thrombozyten exprimieren auch $\alpha_2\beta_1$, das die Adhäsion an Laminin ermöglicht. Nicht zuletzt stellt Fibronektin einen weiteren potenziellen Liganden der extrazellulären Matrix für thrombozytäres $\alpha_5\beta_1$ und aktiviertes $\alpha_{IIb}\beta_3$ dar.

## 6.4 Stabilisierung

Stimuli, die durch die initialen adhäsiven Interaktionen und die im Bereich der Läsion freigesetzten oder generierten Agonisten entstehen, entfalten ihre Wirkung sekundenschnell durch ein Netzwerk von Signalen, um die Adhäsivität und prokoagulative Wirkung der Thrombozyten zu verstärken, die einen initialen Kontakt etabliert haben oder sich in direkter Nähe zur Läsion befinden. Die Aktivierung erfogt durch Outside-in- bzw. Inside-out-Signale und steht unter strenger negativer Kontrolle durch inhibierende Substanzen wie Prostazyklin oder Stickstoffmonoxid (NO). Die Hauptinduktoren der Plättchenaktivierung unter den adhäsiven Substraten sind Kollagen und vWF. Die adhärenten und aktivierten Blutplättchen bilden aus Arachidonsäure Thromboxan $A_2$ ($TxA_2$), das nach Bindung an den spezifischen Thromboxanrezeptor den Aktivierungsprozess verstärkt.

Neben Thromboxan wird als weiterer wichtiger Verstärker des Aktivierungs-, Adhäsions- und Aggregationsprozesses ADP aus den Thrombozyten freigesetzt. Die Interaktion von weiteren zirkulierenden Thrombozyten mit bereits adhärenten Plättchen wird durch den aktivierten GP-IIb-IIIa-Rezeptor vermittelt (Gawaz et al. 1991). Während der initialen Phase (primäre Aggregation) sind die Plättchen durch »lose« Fibrinogenbrücken miteinander verbunden. Auf diesen Kontakt kann dann Sekunden bis Minuten später eine irreversible Stabilisierung der Fibrinogenbindung an den GP-IIb-IIIa-Komplex folgen. Alternativ können auch vWF und Fibronektin solche Brücken vermitteln. Weiterhin scheren die Blutplättchen von ihrer Zellmembran Mikropartikel ab, die die Formation von Thrombin um ein Mikroaggregat katalysieren und dadurch zur Fibrinbildung und Festigung des Thrombus führen.

Neben der klassischen Rolle von Thrombozyten für die Blutgerinnung finden Thrombozyten zunehmend Anerkennung als Aktivatoren oder Modulatoren inflammatorischer Prozesse. In fundierten In-vivo-Studien konnte nachgewiesen werden, dass Thrombozyten chronisch inflammatorische Prozesse wie die Entwicklung atherosklerotischer Plaques bereits in frühen Stadien begünstigen. Dabei scheint eine Kommunikation zwischen Thrombozyt und Endothel sowie zwischen Thrombozyt und inflammatorischen Zellen eine entscheidende Rolle zu spielen. Ähnlich wie für die klassische Funktion von Thrombozyten für die Blutgerinnung spielen auch hier thrombozytäre Adhäsionsrezeptoren eine entscheidende Rolle (Übersicht siehe Gawaz et al. 2005; von Hundelhausen 2007).

## Literatur

Elzey BD (2003) Platelet-mediated modulation of adaptive immunity. A communication link between innate and adaptive immune compartments. Immunity 19: 9–19

Gachet C (2006) Regulation of platelet functions by P2 receptors. Annu Rev Pharmacol Toxicol 46: 277–300

Gawaz MP, Loftus JC, Bajt ML et al. (1991) Ligand bridging mediates integrin alpha IIb beta 3 (platelet GPIIB-IIIA) dependent homotypic and heterotypic cell-cell interactions. J Clin Invest 88: 1128–1134

Gawaz M (2004) Role of platelets in coronary thrombosis and reperfusion of ischemic myocardium. Cardiovasc Res 61: 498–511

Gawaz M, Langer H, May AE (2005) Platelets in inflammation and atherogenesis. J Clin Invest 115: 3378–3384

Gawaz M (2008) Platelets modulate atherogenesis and progression of atherosclerotic plaques via interaction with progenitor and dendritic cells. J Thromb Haemost 6: 235–242

Huo Y (2003) Circulating activated platelets exacerbate atherosclerosis in mice deficient in apolipoprotein E. Nat Med 9: 61–67

Hynes RO (1992) Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. Cell 69: 11–25

Lindemann S, Tolley ND, Dixon DA et al. (2001) Activated platelets mediate inflammatory signaling by regulated interleukin 1beta synthesis. J Cell Biol 154: 485–490

Massberg S (2002) A critical role of platelet adhesion in the initiation of atherosclerotic lesion formation. J Exp Med 196: 887–896

Massberg S, Gawaz M, Gruner S et al. (2003) A crucial role of glycoprotein VI for platelet recruitment to the injured arterial wall in vivo. J Exp Med 197: 41–49

Nieswandt B, Watson SP (2003) Platelet-collagen interaction: is GPVI the central receptor? Blood 102: 449–461

Patil S, Newman DK, Newman PJ (2001) Platelet endothelial cell adhesion molecule-1 serves as an inhibitory receptor that modulates platelet responses to collagen. Blood 97: 1727–1732

Ruggeri ZM (2002) Platelets in atherothrombosis. Nat Med 8: 1227–1234

von Hundelshausen P (2007) Platelets as immune cells: bridging inflammation and cardiovascular disease. Circ Res 100: 27–40

# 7 Thrombozytensekretion

*K. Jurk, B. E. Kehrel*

## Einleitung

Die Sekretion der Thrombozytengranula (α-Granula, dichte Granula und Lysosomen) stellt einen zentralen Aktivierungsschritt der Thrombozyten dar, der essenziell für die Bildung eines stabilen Thrombozytenaggregats/Thrombus ist. Blutungsneigungen, die durch Störungen in der Granulabiogenese oder Degranulierung hervorgerufen werden, wie z. B. das »gray platelet syndrome«, oder das »storage pool disease«, verdeutlichen die Wichtigkeit der Thrombozytensekretion für eine intakte Hämostase.

Die als Sekretom zusammengefassten Granulainhaltsstoffe modulieren nach ihrer Freisetzung nicht nur Prozesse der Hämostase, sondern auch Entzündungs- und Immunabwehrreaktionen. Die Sekretion der Granula ist ein energieabhängiger Exozytoseprozess, der rezeptorvermittelt über Ligandenbindung initiiert wird und in einer proteinregulierten Fusion der Granulamembranen mit der Plasmamembran resultiert. Die Degranulierung bedeutet für Thrombozyten einen Verlust der Granula und deren Inhaltsstoffe, die nicht mittels Endozytose und Proteinbiosynthese wieder aufgefüllt werden können.

Die Freisetzung der Granula ist kein »Alles-oder-nichts-Prozess«. Stattdessen finden sich in der Zirkulation Plättchen, die nicht aktiviert worden sind, bis hin zu »empty sacks«. Spezifische Glykoproteine in der Granulamembran, die nach Exozytose auf der Thrombozytenoberfläche erscheinen, können die Funktion interagierender Thrombozyten sowie die thrombozytären Interaktionen mit anderen Blut- und vaskulären Zellen regulieren.



## 7.1 Thrombozytäre Granula

Thrombozyten besitzen 3 typische sekretorische Organellen – α-Granula, dichte Granula und Lysosomen –, die sich morphologisch, bezüglich ihrer Inhaltsstoffe und in ihrem Exozytoseverhalten unterscheiden. Die α-Granula sind die größten (200–500 nm) und zahlreichsten sekretorischen Organellen (durchschnittlich 80 pro Thrombozyt), gefolgt von den dichten Granula (3–9 pro Thrombozyt) und schließlich von vereinzelten primären und sekundären Lysosomen (175–250 nm) (Sixma et al. 1989). Die sekretorischen Inhaltsstoffe der Thrombozytengranula gehören vielfältigen Stoffklassen und Proteinfamilien an. Nach ihrer extrazellulären Freisetzung sind sie multifunktionell wirksam. Sie amplifizieren autokrin die Thrombozytenaktivierung. Thrombozyten, die am aktivierten Endothel oder an subendothelialen Matrixproteinen adhärieren, stimulieren mit ihren Sekretionsprodukten zirkulierende Thrombozyten. Damit tragen sie zur vermehrten Thrombozytenrekrutierung bei, die für die Vergrößerung des entstehenden Thrombus zur Wundabdeckung notwendig ist. Sezernierte Granulainhaltsstoffe sind aber nicht nur an der Hämostase und Wundheilung beteiligt, sondern sie modulieren ebenso Prozesse der Entzündung, der Immunabwehr und der Zellproliferation (Tab. 7.1).

Die α-Granula sind voll gepackt mit adhäsiven Glykoproteinen, prokoagulatorischen, antikoagulatorischen und fibrinolytischen Faktoren, Chemokinen und anderen proinflammatorischen Substanzen, Wachstumsfaktoren, immunmodulatorischen sowie antimikrobiellen Substanzen (Tab. 7.1). Diese werden entweder ausschließlich (z. B. Plättchenfaktor 4 und β-Thromboglobulin) oder selektiv in den Megakaryozyten synthetisiert bzw. mittels Endozytose aus der Blutzirkulation aufgenommen (z. B. Fibrinogen, Albumin und Immunglobuline). Während des Sekretionsprozesses fusionieren die Membranen der Speichergranula mit der Plasmamembran, und spezifische Granulamembranglykoproteine bzw. -rezeptoren werden auf die Thrombozytenoberfläche transloziert. Die Exozytose der α-Granula führt zu einer vermehrten Oberflächenexpression von P-Selektin (»cluster determinant 62P«, CD62P), welches den »cross-talk« zwischen Thrombozyten und Leukozyten vermittelt und als lösliches sCD62P arterielle Thromben stabilisiert (Andre et al. 2002).

Die dichten Granula beinhalten kleine Moleküle wie Ionen, Nukleotide und Transmitter (Tab. 7.1). Dabei fungieren sezerniertes Adenosindiphospat (ADP) und Serotonin als autokrine Verstärker der Thrombozytenaktivierung, führen zur aktivierungsabhängigen Rekrutierung zirkulierender Thrombozyten und sind wichtig für die Konsolidierung des Thrombozytenaggregats. Ungefähr 50% des Thrombozyten-ADP sind in den dichten Granula gespeichert (ADP-Speicher-Pool). Serotonin (5-Hydroxytryptamin, 5-HT), ein potenter Vasokonstriktor, fungiert nicht nur als Aktivierungsverstärker, sondern besitzt auch eine prokoagulante Rolle, indem es die feste Bindung von

**Tab. 7.1.** Inhaltsstoffe und Membranproteine der thrombozytären Granula

| **α-Granula** | |
|---|---|
| Adhäsionsmoleküle | Fibrinogen, Von-Willebrand-Faktor, Thrombospondin-1, Fibronektin, Vitronektin |
| Prokoagulatorische Faktoren | Faktor V, VII, XI, XIII, Multimerin, Matrixmetalloproteinasen, Kininogen, GAS6 |
| Antikoagulatorische Faktoren | Plasminogen, Plasminogenaktivatorinhibitor 1, Tissue Factor Pathway Inhibitor, Protein C, Protein S, $\alpha_2$-Antiplasmin, $\alpha_2$-Makroglobulin, $\alpha_2$-Antitrypsin, Proteasenexin-2, Matrixmetalloproteinasen |
| Chemokine, Entzündungsmodulatoren | Plättchenfaktor 4, β-Thromboglobulin, MIP-1α, MCP-3, GRO-α, Interleukin-1β, plättchenaktivierender Faktor, 12-HETE, NAP-2, ENA-78, CTAP-3, RANTES, SDF-1α, Kininogen, Komplementfaktoren |
| Wachstumsfaktoren | TGF-β, EGF, VEGF, PDGF |
| Antimikrobielle Peptide, Immunmodulatoren | »Platelet basic protein«, Thrombocidin, Fibrinopeptid A und B, Thymosin-β-4, β-Lysin, Immunglobulin A, G, M, Komplementfaktoren |
| Sonstige Proteine | Albumin, histidinreiches Protein, Prionprotein, Amyloid-β-Peptid |
| Membranproteine | P-Selektin (CD62P), $\alpha_{IIb}\beta_3$-Integrin, $\alpha_V\beta_3$-Integrin, CD36, CD9, GLUT-3 |
| **Dichte Granula** | |
| Nukleotide | ADP, ATP, GDP, GTPα |
| Transmitter | Serotonin, Histamin |
| Kationen | $Ca^{2+}$, $Mg^{2+}$ |
| Membranproteine | Granulophysin (CD63, LAMP-3), LAMP-2 |
| **Lysosomen** | |
| Proteasen | Kathepsin D und E, Elastase, Kollagenase, Carboxypeptidasen, Heparinase |
| Membranproteine | LAMP-1, LAMP-2, LAMP-3 |

*ADP* Adenosindiphosphat; *ATP* Adenosintriphosphat; *CTAP-3* »connective tissue activating peptide-3«; *EGF* »epidermal growth factor«; *ENA-78* »epithelial neutrophil activating protein-78«; *GAS6* »growth arrest specific gene 6«; *GDP* Guanosindiphosphat; *GLUT* Glukosetransporter; *GRO-α* »growth related oncogene-α«; *GTP* Guanosintriphosphat; *12-HETE* »12-hydroxy-5,8,10,14-eicosatetraenoic acid«; *LAMP* »lysosome-associated membrane protein«; *MCP-3* »monocyte chemotactic protein-3«; *MIP-1α* »macrophage inflammatory protein-1α«; *NAP-2* »neutrophil activating protein-2«; *PAI-1* »plasminogen activator inhibitor-1«; *PDGF* »platelet derived growth factor«; *RANTES* »regulated upon activation normal T-cell expressed and secreted«; *SDF-1α* »stromal derived factor«; *TGF-β* »transforming growth factor β«; *VEGF* »vascular endothelial growth factor«

prokoagulanten Proteinen, wie z. B. Fibrinogen, Thrombospondin-1 und Faktor V auf der Thrombozytenoberfläche verstärkt (Dale et al. 2002). Zusätzlich gelangt Serotonin über spezifische Plasmamembrankanäle in das Zytosol, wo es durch eine Transglutaminase mit kleinen Guanosidintriphosphatasen (GTPasen) im Zytosol oder auf der α-Granulamembran kovalent verknüpft wird. Diese Serotinylierungsreaktion fördert die α-Granula-Sekretion, indem die Hydrolyse von GTP zu GDP (Guanosindiphosphat) gehemmt und somit eine konstitutive Aktivierung der GTPasen bewirkt wird (Walther et al. 2003).

CD63 (Granulophysin, LAMP-3) und CD107b (LAMP-2), Mitglieder der Tetraspanin-Superfamilie, stellen die Hauptmembranglykoproteine der dichten Granula. CD63 liegt mit einem anderen Tetraspanin CD9 und dem Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ (Glykoprotein IIb-IIIa, GPIIb-IIIa) als Komplex auf der Membran aktivierter Thrombozyten vor und wird als Modulator beim Integrin-Signaling diskutiert (Israels et al. 2001). Der ATP-bindende Kassettentransporter A1 (ABCA1) wurde als wichtiger Regulator für die Reifung und Funktion der dichten Granula in und auf der Thrombozytenoberfläche identifiziert (Nofer et al. 2004).

Die thrombozytären Lysosomen ähneln den lysosomalen Granula in anderen Zellen und sind vorwiegend mit sauren Hydrolasen, Kathepsinen, Elastase und Kollagenase beladen. Ihnen werden primär Funktionen bei der Degradation von extrazellulären Matrixproteinen im Subendothel zugeordnet. Sie sind daher entscheidend an Umbauprozessen von Blutgefäßen, wie z. B. bei der Angiogenese, Arteriosklerose und Tumormetastasierung, beteiligt. Die lysosomalen Hauptmembranproteine sind LAMP-1, LAMP-2 und LAMP-3 (Tab. 7.1).

## 7.2 Initiierung

Die Sekretion der Granula findet als Folge komplexer Signalübertragungen im Thrombozyten, rezeptorvermittelt über Ligandenbindung statt. Liganden, die als Thrombozytenagonisten fungieren und die Granulasekretion induzieren, sind am Subendothel lokalisierte extrazelluläre Matrix- oder immobilisierte Plasmaproteine, z. B. Von-Willlebrand-Faktor, Kollagen, Thrombospondin-1 (Jurk et al. 2003), Fibrinogen/Fibrin, aktiviertes Endothel (Frenette et al. 2000; Viemann et al. 2005), aktivierte Thrombozyten, pathogene Mikroorganismen, wie z. B. Bakterien und Pilze (Heilmann et al. 2004; Fitzgerald et al. 2006), sowie im Blut zirkulierende bzw. lokal zellulär sezernierte Mediatoren (z. B. Thrombin, ADP, plättchenaktivierender Faktor, Immunkomplexe).



Die intrazelluläre Erhöhung der $Ca^{2+}$-Konzentration sowie die Aktivierung der Proteinkinase C (PKC) stellen kritische Signaltransduktionsprozesse dar, die die Granulasekretion initiieren. Eine Vielzahl an Thrombozytenagonisten stimuliert die Thrombozyten über G-Protein-gekoppelte Rezeptoren. Die Aktivierung von spezifischen Gq-Protein-gekoppelten Siebentransmembranrezeptoren führt zur Aktivierung der Phospholipase Cβ, welche die Hydrolyse von Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat ($PIP_2$) zu Inositoltriphosphat ($IP_3$) katalysiert. $IP_3$ wiederum induziert rezeptorvermittelt die $Ca^{2+}$-Freisetzung aus dem dichten tubulären System in das Zytosol. Ein Anstieg der zytosolischen $Ca^{2+}$-Konzentration vom nanomolaren in den mikromolaren Konzentrationsbereich führt zu einer calmodulinabhängigen Aktivierung der Myosin-leichte-Ketten-Kinase, die die Myosin-leichte-Kette phosphoryliert und somit die Bewegung des Myosins entlang der Aktinfilamente ermöglicht – die kontraktile Kraft der Granulabewegung (Fox 2001). Ebenso werden durch den zytosolischen $Ca^{2+}$-Anstieg $Ca^{2+}$-bindende Proteine aktiviert, die den Exozytoseprozess regulieren.

Thrombozytenagonisten wie z. B. Kollagen, Von-Willebrand-Faktor und Immunglobuline führen durch Bindung an ihre spezifischen Rezeptoren zu einem Rezeptor-Clustering, das zur Aktivierung von Nicht-Rezeptor-Tyrosinkinasen führt. Diese phosphorylieren die Domänen von rezeptorassoziierten Immunrezeptor-Tyrosin-abhängigen Aktivierungsmotiven (ITAM) und spezifische Adapterproteine. Durch diese Signalkaskade wird ebenso wie beim Gq-Protein-abhängigen Signalweg eine Isoform der Phospholipase C ($PLC\gamma_2$) aktiviert, die die Freisetzung von $Ca^{2+}$ in das Zytosol vermittelt (Kehrel et al. 1998; Ozaki et al. 2000).

Die Spaltung von $PIP_2$ durch die Phospholipase C führt aber nicht nur zur Bildung von $IP_3$, sondern auch zur Generierung von plasmamembranassoziierten Diacylglyzeriden, die verschiedene Isoformen der PKC aktivieren.

Aktivierte PKC ist in der Lage eine Vielzahl an sekretionsregulierenden Proteinen zu phosphorylieren, z. B. myristoyliertes alaninreiches C-Kinase-Substrat (MARCKS). MARCKS-Proteine binden und quervernetzen Aktin. Ihre Phosphorylierung durch aktivierte PKC führt zur Dissoziation von Aktin und somit zu einer Auflösung des plasmamembranassozierten F-Aktin-Zytosketts (Arbuzova et al. 2002). Die kurzfristige Auflösung der membranständigen Zytoskelettbarriere ist essenziell, damit der Granula-Exozytose-Kern-Komplex gebildet werden kann (Trifaro et al. 2002).

Der Anstieg der zytosolischen $Ca^{2+}$-Konzentration bzw. die Aktivierung der PKC sind zwar getrennt ausreichend für die Degranulation, aber dennoch wirken beide Effektoren synergistisch, wodurch der Sekretionsprozess amplifiziert wird.

Die Aktivierung von Gq- bzw. Gi-Protein-gekoppelten Rezeptoren sowie die Aktivierung von Rezeptoren, die mit Nicht-Rezeptor-Tyrosinkinasen gekoppelt sind (z. B. GP VI und FcγRII), führen zudem zur Aktivierung von Phosphoinositol-3-Kinase (PI3K), die sowohl spezifische Phosphoinositole als auch Isoformen der Serin/Threonin-(Ser/Thr-) Kinase Akt (Proteinkinase B) phosphoryliert und zudem die Granulasekretion triggert (Woulfe et al. 2004).

## 7.3 Mechanismen der Exozytose

Die molekularen Prozesse der Exozytose bei Thrombozyten basieren auf homologen Mechanismen, die auch bei anderen spezialisierten sekretorischen Zellen bekannt sind. Dennoch besitzen Thrombozyten eine eigene Exozytosemaschinerie, die mit spezifischen Signalwegen nach Aktivierung der Thrombozyten gekoppelt ist. Der Exozytoseprozess ist durch 4 wesentliche Schritte charakterisiert:

- zytoskelett-gesteuerte Wanderung der sekretorischen Granula in die Nähe der Plasmamembran,
- proteinvermittelte Interaktion zwischen der Granulamembran und der Plasmamembran,
- Fusion der Granulamembran mit der Plasmamembran und schließlich
- extrazelluläre Freisetzung der Granulainhaltsstoffe.

Eine komplex gesteuerte Dynamik des Thrombozytenzytoskeletts ist erforderlich für die aktivierungsabhängige Zentralisierung der Granula und deren gerichtete Bewegung in die Nähe der Plasmamembran, die entweder auf direktem Weg oder über das offene kanikuläre Membransystem erfolgt. Das Zytoskelett in ruhenden Thrombozyten besteht primär aus einem kortikalen spektrinreichen F-Aktin-Skelett an der zytosolischen Seite der Plasmamembran, einem zentralen F-Aktin-Kern mit Mikrotubulifilamenten und einem zytoplasmatischen Aktin-Filamin-Aktinin-Netzwerk. Zumindest die α-Granula scheinen ebenso von einem

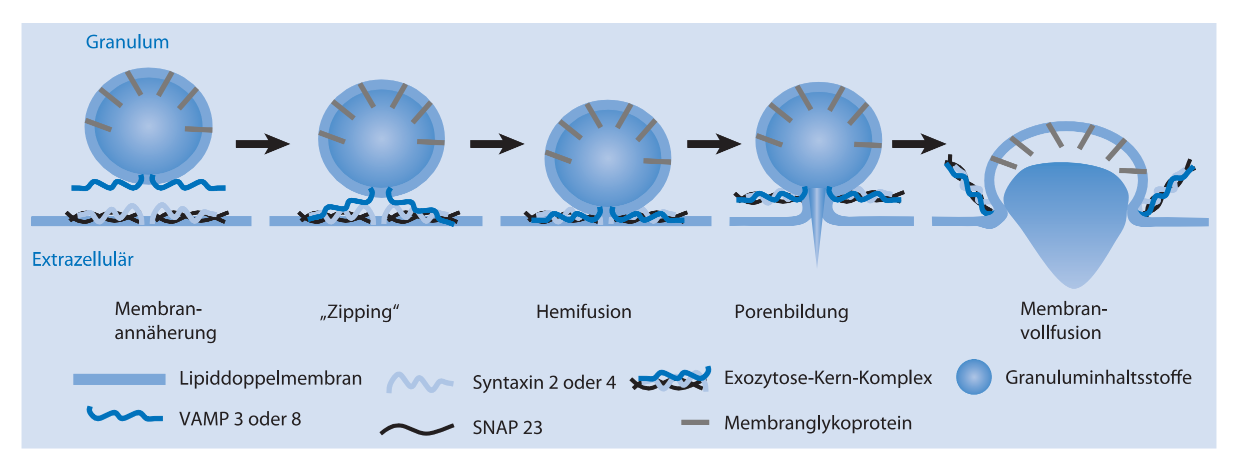



**Abb. 7.1.** SNARE-Protein-vermittelte Exozytose von Thrombozytengranula. *SNAP* lösliches NSF-bindendes Protein; *VAMP* vesikelassoziierte Membranproteine

F-Aktin-Zytoskelettmantel umgeben zu sein (Flaumenhaft et al. 2005). Damit liegen ca. 40% des Thrombozytenaktins als Filamente in Form von F-Aktin im ruhenden Thrombozyten vor. Aktuelle Untersuchungen unterstützen die Hypothese, dass das F-Aktin-Zytoskelett in unstimulierten Thrombozyten eine protektive Barrierefunktion übernimmt, damit die hochaktiven Granulainhaltsstoffe nicht unreguliert sezerniert werden (Flaumenhaft et al. 2005). Eine spezifische rasche Auflösung und erneute Bildung von Mikrotubuli- und Aktin-Myosin-Filamenten sind essenziell für die aktivierungsinduzierte Reorganisation des Thrombozytenzytoskeletts. Sie stellt die Kraft für die Granulabewegung dar.

Eine ATP-abhängige »Protein-Membran-Fusionsmaschinerie« bereitet die Fusion der Granulamembran mit der Plasmamembran vor. Sie überwindet dabei elektrostatische und Hydratisierungskräfte benachbarter Lipidschichten, die eine spontane Fusion der Membran-Lipid-Doppelschichten verhindern. Unterschiedliche N-ethylmaleimide-(NEM-)sensitive Proteinbindungsrezeptoren, sogenannte SNARE-Proteine, sind sowohl auf der Granulamembran (vesikuläre SNARE, v-SNARE) als vesikelassoziierte Membranproteine (VAMP-3 oder VAMP-8) als auch an der zytosolischen Seite der Plasmamembran (t-SNARE) als Syntaxin-2 oder Syntaxin-4 und lösliches NSF-bindendes Protein (SNAP-23) lokalisiert.

Ein VAMP-Molekül, ein Syntaxinmolekül und 2 SNAP-Moleküle interagieren am jeweiligen N-Terminus initial miteinander. Dieser als »zipping« bezeichnete Prozess bringt die 2 angrenzenden Membrandoppelschichten so weit in engen Kontakt, dass die korrespondierenden v- und t-SNARE-Proteine im gesamten Molekülbereich über ihre »coiled-coil«-Domänen feste Bindungen miteinander eingehen. Sie bilden einen stabilen trimeren Komplex, der als »Exozytose-Kern-Komplex« bezeichnet wird. Diese Komplexbildung führt zur Fusion der angrenzenden Lipideinzelschichten (Hemifusion), die aufgrund ihres energetischen instabilen Zustandes zu einer vollständigen Fusion der Lipiddoppelschichten und somit zur Bildung einer Fusionspore führt. Erst die Ausbildung einer Fusionspore ermöglicht die barrierefreie Sekretion der Granulainhaltsstoffe und die Präsentation von Granulamembran-Glykoproteinen auf der extrazellulären Seite der Thrombozytenplasmamembran (Abb. 7.1, Flaumenhaft 2003).

Lipide, spezifische Chaperonproteine sowie GTP-bindende Proteine sind in die Steuerung des Membranfusionprozess involviert (Flaumenhaft 2003).

Das hexamere Chaperonprotein NEM-sensitives Fusionsprotein (NSF) ist eine $Mg^{2+}$-abhängige ATPase und ist essenziell für die Regulation der Granulasekretion. Mit Hilfe von ATP verändert sie die Konformation von t-SNARE-Komplexen an der Plasmamembran von einer cis- in eine trans-Konformation bzw. löst sich von den t-SNARE-Komplexen, sodass deren Interaktion mit v-SNARE auf der Granulamembran ermöglicht wird (Flaumenhaft 2003). Zytosolisch generiertes Stickstoffmonoxid (NO) inhibiert den Exozytoseprozess in Thrombozyten durch S-Nitrosylierung des NSF. Diese kovalente Modifizierung im NSF verhindert seine ATP-abhängige Ablösung von den t-SNARE-Komplexen (Morell et al. 2005). Munc-18c und homologe Vertreter sowie Mitglieder der Septinfamilie, ebenso Chaperonproteine, sind in ruhenden Thrombozyten an der Plasmamembran mit Syntaxin-4 und GTPasen-bindenden Effektorproteinen assoziiert. Die Assoziation dieser Chaperonproteine mit Syntaxin-4 blockiert die Interaktion der v-SNARE mit den t-SNARE und somit die Bildung des Exozytose-Kern-Komplexes. Werden Thrombozyten aktiviert, erfahren Munc-18c bzw. spezifische Septine Phosphorylierungen durch die aktivierte PKC. Diese Phosphorylierungsreaktion induziert eine Affinitätsabnahme zum Syntaxin-4,

sodass Syntaxin-4 mit SNAP-23 und VAMP auf der Granulamembran den Exozytose-Kern-Komplex bilden können (Schraw et al. 2003). Neben der Rolle beim Membranfusionsprozess scheinen bestimmte Mitglieder der Septinfamilie auch am Granulatransportprozess regulativ beteiligt zu sein (Blaser et al. 2004; Martinez et al. 2006).

Rab-Proteine, Mitglieder der Superfamilie der Ras-GTPasen, spielen eine Schlüsselrolle bei der initialen Interaktion der Granula mit der Plasmamembran. Sie binden nach Thrombozytenaktivierung auf der Granulamembran GTP und interagieren auf der Seite der Plasmamembran mit spezifischen Effektorproteinen. Diese Interaktion führt zu weiteren Wechselwirkungen mit SNARE-Proteinen, NSF oder weiteren Chaperonproteinen. Rab-Proteine regulieren demnach die Ausbildung des Exozytose-Kern-Komplexes (Reed 2004).



## Literatur


Andre P, Prasad KS, Denis CV et al. (2002) CD40L stabilizes arterial thrombi by a beta3 integrin-dependent mechanism. Nat Med 8: 247–252

Arbuzova A, Schmitz AA, Vergeres G (2002) Cross-talk unfolded: MARCKS proteins. Biochem J 362: 1–12

Blaser S, Horn J, Wurmell P et al. (2004) The novel human platelet septin SEPT8 is an interaction partner of SEPT4. Thromb Haemost 91: 959–966

Dale GL, Friese P, Batar P et al. (2002) Stimulated platelets use serotonin to enhance their retention of procoagulant proteins on the cell surface. Nature 415: 175–179

Fitzgerald JR, Foster TJ, Cox D (2006) The interaction of bacterial pathogens with platelets. Nat Rev Microbiol 4: 445–457

Flaumenhaft R (2003) Molecular basis of platelet granule secretion. Arterioscler Thromb Vasc Biol 23: 1152–1160

Flaumenhaft R, Dilks JR, Rozenvayn N et al. (2005) The actin cytoskeleton differentially regulates platelet alpha-granule and dense-granule secretion. Blood 105: 3879–3887

Fox JE (2001) Cytoskeletal proteins and platelet signaling. Thromb Haemost 86: 198–213

Frenette PS, Denis CV, Weiss L et al. (2000) P-Selectin glycoprotein ligand 1 (PSGL-1) is expressed on platelets and can mediate platelet-endothelial interactions in vivo. J Exp Med 191: 1413–1422

Heilmann C, Niemann S, Sinha B et al. (2004) Staphylococcus aureus fibronectin binding protein (FnBP)-mediated adherence to platelets, and aggregation of platelets induced by FnBPA but not by FnBPB. J Infect Dis 190: 321–329

Israels SJ, McMillan-Ward EM, Easton J et al. (2001) CD63 associates with the alphaIIb beta3 integrin-CD9 complex on the surface of activated platelets. Thromb Haemost 85: 134–141

Jurk K, Clemetson KJ, de Groot PG et al. (2003) Thrombospondin-1 mediates platelet adhesion at high shear via glycoprotein Ib (GP Ib): an alternative/backup mechanism to von Willebrand factor. FASEB J 17: 1490–1492

Kehrel B, Wierwille S, Clemetson KJ et al. (1998) Glycoprotein VI is a major collagen receptor for platelet activation: it recognizes the platelet activating quaternary structure of collagen, whereas CD36, glycoprotein IIb/IIIa, and von Willebrand factor do not. Blood 91: 491–499

Martinez C, Corral J, Dent JA et al. (2006) Platelet septin complexes form rings and associate with the microtubular network. J Thromb Haemost 4: 1388–1395

Morell CN, Matsushita K, Chiles K et al. (2005) Regulation of platelet granule exocytosis by S-nitrosylation. PNAS 102: 3782–3787

Nofer JR, Herminghaus G, Brodde M et al. (2004) Impaired platelet activation in familial high density lipoprotein deficiency (Tangier disease). J Biol Chem 279: 34032–34037

Ozaki Y, Qi R, Satoh K et al. (2000) Platelet activation mediated through membrane glycoproteins: involvement of tyrosine kinases. Semin Thromb Hemost 26: 47–51

Reed GL (2004) Platelet secretory mechanisms. Semin Thromb Hemost 30: 441–450

Schraw TD, Lemons PP, Dean WL et al. (2003) A role for Sec1/Munc18 proteins in platelet exocytosis. Biochem J 374: 207–217

Sixma JJ, Slot JW, Geuze HJ (1989) Immunocytochemical localization of platelet granule proteins. Methods Enzymol 169: 301–311

Trifaro JM, Lejen T, Rose SD et al. (2002) Pathways that control cortical F-actin dynamics during secretion. Neurochem Res 27: 1371–1385

Viemann D, Strey A, Janning A et al. (2005) Myeloid-related proteins 8 and 14 induce a specific inflammatory response in human microvascular endothelial cells. Blood 105: 2955–2962

Walther DJ, Peter JU, Winter S et al. (2003) Serotonylation of small GTPases is a signal transduction pathway that triggers platelet alpha-granule release. Cell 115: 851–862

Woulfe D, Jiang H, Morgans A et al. (2004) Defects in secretion, aggregation, and thrombus formation in platelets from mice lacking Akt2. J Clin Invest 113: 441–450

# 8 Thrombusformation im Blutfluss

*A. J. Reininger*

## Einleitung

Physiologischer Schutz gegen Blutung, sogenannte Hämostase, wird durch Plättchenadhäsion und -aggregation an der verletzten Gefäßwand sichergestellt – das Leck wird abgedichtet. Thrombose ist eine hämostatische Reaktion, die fehlgeleitet an einer krankhaft veränderten Gefäßwand abläuft – das Gefäßlumen wird verlegt. Durch den hämodynamischen Vorgang der erythrozytären Axialmigration entsteht im strömenden Blut eine wandnahe Plasmagrenzschicht mit darin angereicherten Thrombozyten, die das Endothel auf Defekte absuchen. Normalerweise nicht im Blut vorhandene Strukturen der Gefäßwand, vor allem Kollagen Typ I und III, triggern das Anhaften der Thrombozyten. Während unter niedrigen Scherraten eine Anzahl von Protein-Rezeptor-Interaktionen möglich ist, bindet unter hohen Scherraten bevorzugt der Plättchenrezeptor Glykoprotein (GP) Ibα an Von-Willebrand-Faktor (vWF), wodurch die schnell strömenden Thrombozyten abgebremst und transient zum Haften gebracht werden. GP Ib benötigt dafür keine Aktivierung.

Nachfolgend werden durch Outside-in- und Inside-out-Signale weitere Rezeptoren wie Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ (GP IIb/IIIa), Integrin $\alpha_2\beta_1$ und GP VI aktiviert und somit zusätzliche Bindungen ermöglicht. Fortgesetzte Anlagerung strömender Thrombozyten auf der ersten Schicht adhärenter Plättchen benötigt erneut vWF als Vermittler. Fibrinogenbrückenbildung zwischen Integrin-$\alpha_{IIb}\beta_3$-Rezeptoren auf benachbarten Plättchen festigt die entstehenden Aggregate, an deren Membranoberflächen plasmatische Gerinnungsfaktoren komplexiert und aktiviert werden. Außerdem enthalten Thrombozyten Messenger-RNA (mRNA) zur schnellen Produktion von Tissue Factor, dem effektivsten Beschleuniger der extrinsischen Gerinnung. Aus Thrombozyten unter hohen Scherraten durch GP-Ib-vWF-Interaktion entstandene Mikropartikel sind ebenfalls gerinnungsaktiv.

Die Thrombozytenaggregate werden also durch ein Fibrinnetzwerk zusätzlich gegen Abriss durch Scherkräfte stabilisiert. Trotz teilweise widriger Strömungsverhältnisse fokussieren somit die Plättchen und thrombozytären Mikropartikel die Thrombusentstehung auf die Verletzungsregion und initiieren und beschleunigen den nachfolgenden Stabilisierungsprozess.



## 8.1 Initiierung der Thrombusformation in der Zirkulation

### 8.1.1 Hämodynamische Grundlagen

Ein wesentlicher Faktor der Hämostase und Thrombose ist die Blutströmung, die die Reaktionspartner entweder erst zusammenbringt oder sie zerstreut. Zusätzlich übt die Strömung auch Kräfte auf die Gefäßwand, die Blutzellen und die Plasmaproteine aus und kann so deren Funktion und Eigenschaften beeinflussen. Die Fließgeschwindigkeit des Blutes variiert nicht nur in den einzelnen Gefäßprovinzen, sondern auch innerhalb ein und desselben Gefäßes: Während an der Gefäßwand eine Geschwindigkeit von Null herrscht, steigt sie zur Gefäßmitte hin auf ein Maximum an. Die einzelnen Flüssigkeitsschichten bewegen sich zueinander mit unterschiedlicher Geschwindigkeit und erzeugen dadurch eine in Pascal ausgedrückte Kraft, den sogenannten Scherstress (1 Pa = 1 N/m² = 10 dyn/cm²). Scherstress ist proportional zur Viskosität des Blutes (mPas) sowie zur Scherrate ($s^{-1}$), die die unterschiedliche Strömungsgeschwindigkeit als Funktion des Abstandes von der Gefäßwand ausdrückt.

Im Allgemeinen sind die Scherraten in Arterien höher als in Venen und erreichen in kleinen Arteriolen von 10–50 µm Durchmesser Werte von 500– 5.000 $s^{-1}$. Bei pathologisch eingeengten atherosklerotischen Koronararterien mit 50%iger Stenose steigen die Scherraten auf 3.000–10.000 $s^{-1}$ und übersteigen 50.000 $s^{-1}$ bei noch höheren Stenosegraden (Back et al. 1977; Strony et al. 1993; Mailhac et al. 1994). Hämostase und Thrombose sind wandständige Prozesse in der Grenzschicht zwischen der Gefäßwand oder der Thrombusoberfläche und der unmittelbar daran anliegenden Blutschicht. Die hier herrschenden Scherraten bezeichnet man deshalb auch als Wandscherraten.

Die Grenzschicht zwischen Gefäßwand und Blut wird durch das rheologische Phänomen der erythrozytären Axialmigration moduliert: Mit ansteigender Fließgeschwin-

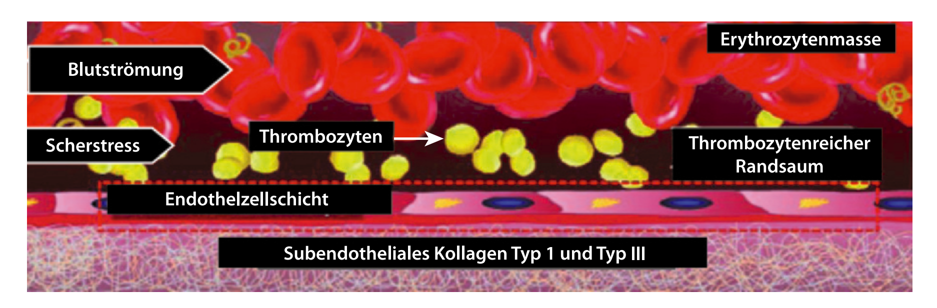



**Abb. 8.1.** Durch Axialmigration entfernen sich die Erythrozyten von der Gefäßwand und es entsteht ein mit Thrombozyten angereicherter Plasmarandsaum

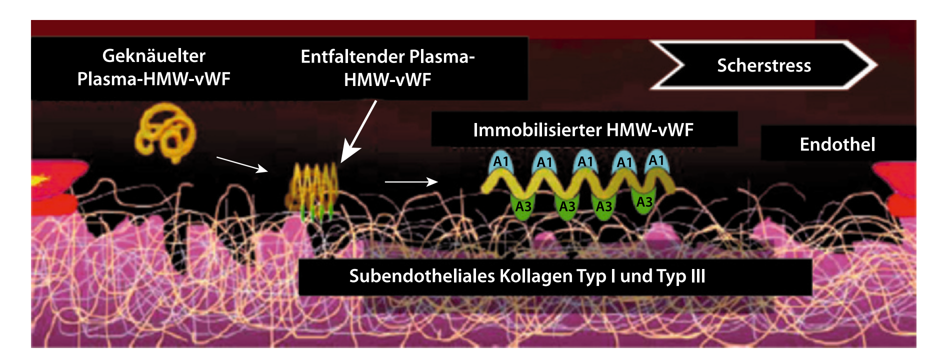



**Abb. 8.2.** Scherinduzierte Streckung von hochmolekularen vWF-Multimeren (»high molecular weight multimers«, HMW-vWF). Die Konformationsänderung der HMW-vWF und ihre Bindung an Kollagen über die A3-Domäne macht die Thrombozytenbindungs-Domäne A1 in hoher Anzahl zugänglich

digkeit konzentrieren sich die Erythrozyten als Hauptmasse zur Gefäßachse hin und lassen dabei einen erythrozytenfreien Plasmasaum (»plasma skimming«) nahe der Gefäßwand entstehen, in dem sich wiederum die Thrombozyten anreichern (Gaethgens 1981; Perkkio et al. 1987; Carr u. Xiao 1995). Dadurch wird besonders effektiv sichergestellt, dass Thrombozyten im Vorbeifließen die Gefäßinnenwand auf Defekte absuchen können. Dieses Phänomen findet sich vor allem bei arterieller Strömung (Abb. 8.1; Walter et al. 2003).

Umgekehrt führt ein niedriger Hämatokrit zu einer reduzierten Thrombozytenzahl in dieser Grenzschicht (Karnis et al. 1963; Goldsmith u. Turitto 1986; Goldsmith et al. 1989) und kann z. B. bei einem Wert unter 30% auch die Blutungszeit verlängern (Livio et al. 1982). Verzichtet man bei In-vitro-Experimenten mit wandparalleler Strömung vollständig auf die Anwesenheit der Erythrozyten und verwendet nur plättchenreiches Plasma, so kommt es nur noch zu einer zufälligen Thrombozytenablagerung. Verwendet man aber Vollblut und reduziert stattdessen die Thrombozytenkonzentration, so zeigt sich erst bei sehr niedrigen Konzentrationen ein Effekt: Selbst bei 37.000 Plättchen/µl ist die Anzahl auf einer vWF-beschichteten Oberfläche haftender Thrombozyten noch unverändert. Erst bei 5.000 Plättchen/µl ist sie deutlich verringert (Baumgartner 1973; Basmadjian 1990). Bei Patienten treten schwere Blutungen aufgrund einer Thrombozytopenie üblicherweise bei Werten unter 10.000 Plättchen/µl auf (Slichter u. Harker 1978).

### 8.1.2 Von-Willebrand-Faktor als Adhäsionsvermittler

Entdecken die Thrombozyten bei ihrer »Abtastung« der Endothelschicht einen Defekt mit freiliegendem subendothelialen Kollagen, so sind sie bei arterieller Strömung nicht in der Lage daran zu haften. Die schnell strömenden Plättchen benötigen dazu einen »Kontaktvermittler« – das Plasmaprotein vWF. Der Von-Willebrand-Faktor liegt im Plasma in globulärer Form vor und wird durch Scherstress langgestreckt (Abb. 8.2; Walter et al. 2003), wie durch Atomic-Force-Mikroskopie (Siedlecki et al. 1996) und Visualisierung unter Strömung (Schneider et al. 2007) experimentell nachgewiesen werden konnte. Somit werden mehr Bindungsdomänen zugänglich, wodurch sich die Bindungsstärke der A3-Domänen an Kollagen und der A1-Domänen an den Thrombozytenrezeptoren Glykoprotein Ibα erhöht.

Der Von-Willebrand-Faktor wird von Endothelzellen synthetisiert, in den Weibel-Palade-Körperchen gespeichert und als Antwort bei Aktivierung des hämostatischen

Mechanismus – also z. B. bei Stimulation durch Thrombin oder Fibrin – reguliert sezerniert (Harrison u. McKee 1984; Wagner 1990; Mayadas u. Wagner 1991). Dabei werden neben den hochmolekularen vWF-Multimeren auch ultragroße vWF-Multimere freigesetzt, die lokal ihre besonders hohe prothrombotische Aktivität entfalten können, bevor sie von der Protease ADAMTS13 (*A Disintegrin and Metalloprotease with Thrombospondin motif*) abgebaut werden. Die vWF-Freisetzung aus Thrombozyten erfolgt durch Sekretion aus den α-Granula (Cramer et al. 1988), die bis zu 20% des gesamten im Blut vorhandenen vWF enthalten können. Auch in den Thrombozyten finden sich die ultragroßen vWF-Multimere (Fernandez et al. 1982; Ruggeri et al. 1982b), die bei Stimulation durch Adenosindiphosphat (ADP), Kollagen oder Thrombin freigesetzt werden (Koutts et al. 1978). Die lokale Freisetzung dieser hämostatisch aktivsten vWF-Multimere konzentriert sie unmittelbar an der Verletzungsstelle und kann so den Reparaturmechanismus beschleunigen.



Ihre proteolytische Wirkung und damit ihren Einfluss auf die Thrombusgröße entfaltet die Protease ADAMTS13 bevorzugt dann, wenn die Haftung zwischen den Thrombozyten durch pathologisch erhöhten Scherstress und in Abhängigkeit von vWF stattfindet. Hohe Scherkräfte können außerdem zu einer Selbstassoziation der vWF-Multimere führen (Savage et al. 2002, Shankaran et al. 2003) und dadurch deren Bindungseigenschaften steigern. Dies verstärkt wiederum die Plättchenadhäsion und -aggregation. Eine solche schervermittelte Assemblierung des vWF zu größeren Strukturen ist wahrscheinlich ein effizienter Weg, um lokal diejenigen Moleküle und Molekülgrößen zu erhalten, die für die Thrombusbildung notwendig sind. Gleichzeitig stellt ihr scherabhängiger Abbau über ADAMTS13 einen eng regulierten Kontrollmechanismus der Thrombogenese dar (Ruggeri 2003).

Von-Willebrand-Faktor wird sowohl konstitutiv als auch reguliert von Endothelzellen sezerniert und dann ins Plasma abgegeben oder in der extrazellulären Matrix abgelagert. Unabhängig von endogenem subendothelialen vWF, der ebenfalls effizient die Thrombozytenadhäsion unterstützt (Stel et al. 1985, Turitto et al. 1985), bindet der plasmatische vWF schnell an mehrere Komponenten der extrazellulären Matrix, wenn Blut mit einer verletzten Gefäßwand in Kontakt kommt. Dies ist wahrscheinlich der vorherrschende Mechanismus um vWF in der Umgebung blutender Wunden zu immobilisieren, vor allem da in tiefen Schichten kein intrinsischer vWF vorhanden ist. Beströmung von Subendothel, das mit funktionsblockierenden Anti-vWF-Antikörpern behandelt wurde, reduziert die Thrombozytenadhäsion um 65–90% und zeigt somit die wichtige Rolle des plasmatischen vWF (Stel et al. 1985, Turitto et al. 1985). Ob das Plasmaprotein Thrombospondin ebenfalls bei arteriellen Scherraten bis 4.000 $s^{-1}$ die Thrombozytenadhäsion ermöglicht (Jurk et al. 2003), bedarf noch weiterer Bestätigung.

### 8.1.3 Thrombozytenform und Dynamik der Translokation unter Strömung

Für die Bewegung und das Haften der Thrombozyten an thrombogenen Oberflächen ist ihre Form ein wesentlicher Faktor. Anders als bei den kugeligen Leukozyten wird eine Rollbewegung duch die diskoide Plättchenform nicht unterstützt. Stattdessen zeigen Plättchen nach dem ersten Kontakt, der sie aus der schnellen Strömung abbremst, eine weitere Fortbewegung in Fließrichtung, die einem »Rutschen« oder »Umklappen« (»flip«) entspricht (Reininger et al. 2006, Maxwell et al. 2007). Die Thrombozyten bewegen sich dabei diskontinuierlich im Wechsel von Abstoppen und Fließen.

Im Verhältnis zu rollenden kugeligen Blutzellen bieten rutschende, flach aufliegende und diskusförmige Plättchen einen deutlich geringeren Strömungswiderstand. Dadurch wird die Zugbelastung auf der Verbindung zwischen Plättchenrezeptor und wandständigem Ligand reduziert und resultiert somit in einer höheren Verweildauer des Thrombozyten. Damit erhöht sich die Wahrscheinlichkeit weiterer Rezeptor-Liganden-Interaktionen.

Anders als bisher angenommen, haften die Thrombozyten beim Erstkontakt mit der Wand aber nicht mit der gesamten flach aufliegenden Membran, sondern nur über einzelne diskrete Adhäsionspunkte (DAP; ▶ Kap. 8.1.4), die sich dynamisch und sehr variabel in Abhängigkeit von der Scherbelastung ausbilden. Bleibt ein solcher DAP an der thrombogenen Oberfläche verankert, während die Strömung den Thrombozyten weiterbewegt, so wird durch die einwirkenden Zugkräfte aus dem diskusartigen Plättchen ein dünner Membranschlauch (»tether«) gezogen, der die Verbindung zwischen DAP und Thrombozyt darstellt (Abb. 8.3) (Dopheide et al. 2002; Reininger et al. 2006). Durch die Entstehung dieser »tethers« reduziert sich die Zugbelastung zusätzlich, und die Bindungskraft zwischen Rezeptor und Ligand wird weniger beansprucht (Shao et al. 1998; Reininger 2006).

Thrombozyten scheinen durch diesen Mechanismus dem Fortgerissenwerden durch die Strömung besonders gut widerstehen zu können. Obwohl die Thrombozyten nur einen Durchmesser von 1–3 μm besitzen, können »tether« eine Länge von 30 μm und mehr erreichen (Dopheide et al. 2002; Reininger et al. 2006). Da eine Zellmembran nur etwa 4% gedehnt werden kann, bevor es zur Zelllyse kommt (Evans u. Skalak 1979), ist eine solche massive Membranextension nur über die Verwendung des Membranreservoirs des offenen kanalikulären Systems (OCS) möglich. Diese Membranreserven mildern auch Veränderungen der Membranspannung und dämpfen dadurch die plättchenak-

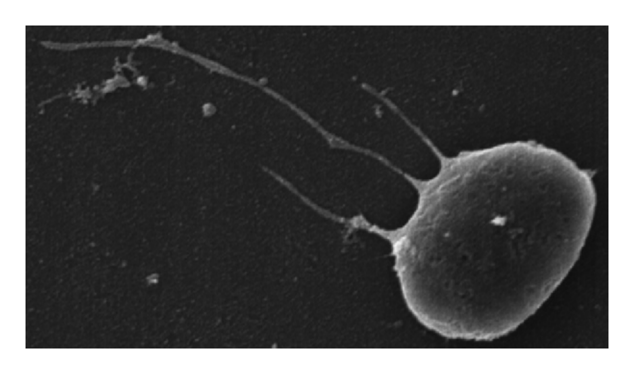


**Abb. 8.3.** Nicht aktivierter Thrombozyt mit 3 »tethers«; Primärvergrößerung 12.000-fach

tivierenden Effekte schneller Schwankungen in der Blutströmung (Raucher u. Sheetz 1999).

### 8.1.4 Scherbelastungsabhängigkeit der Adhäsion und Aggregation

Ein einzigartiges Charakteristikum der Thrombozyten-vWF-Interaktion ist ihre Widerstandsfähigkeit gegen extrem hohe Scherbelastung, wie sie z. B. in hochgradig stenosierten Arterien auftritt. Grundlage dafür ist das Haften der Thrombozyten über DAP, die einer Membranfläche von 0,05–0,1 $\mu m^2$ mit etwa 75–100 GP-Ibα-Rezeptoren entsprechen. Solche isolierten DAP können einer mechanischen Belastung bis zu 160 pN widerstehen (Reininger et al. 2006). Bei gleichzeitiger Bindung aller vorhandenen Rezeptoren entspräche das einer Bindungsstärke von 1,6 pN pro Bindungsstelle – eine Größenordnung, die in anderen Experimenten ebenfalls gefunden wurde (Arya 2002). Anders als bei Leukozyten, die bei venösen Scherraten von 100 $s^{-1}$ und mit einer Einzelbindung von 112 pN adhärieren können (Alon et al. 1995), scheint bei Thrombozyten die Verteilung der Adhäsionskraft auf multiple Bindungen besonders günstig für die Haftung in arterieller Strömung und bei hohen Scherraten zu sein. Die DAP repräsentieren dabei vermutlich die strukturelle Einheit zur Koordinierung der multivalenten GP-Ibα-vWF-A1-Interaktionen.

## 8.2 Thrombusstabilisierung

### 8.2.1 Reversible Aggregation und Aktivierungsverstärkung

Die Dissoziationsrate für Thrombozyten an vWF ist sehr hoch und lässt deshalb kaum irreversible Adhäsion zu (Savage et al. 1996). Derart an vWF haftende Plättchen bewegen sich aber konstant in Strömungsrichtung weiter (Kato et al. 2003; Donadelli et al. 2006), wobei ihre Geschwindigkeit weniger als 2% der freien Flussgeschwindigkeit beträgt. Dadurch können – zumeist über Rezeptoren der Integrin-Superfamilie – zusätzliche Bindungen entstehen, die typischerweise eine langsamere Bildungsrate als GP Ib aufweisen, aber im Gegensatz zu GP Ib eine stabile Plättchenadhäsion, Spreiten der Thrombozyten (»spreading«) und Aggregation unterstützen.

Wird das Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ aktiviert, so bindet es an vWF selbst (Ruggeri et al. 1982a, 1983) sowie an andere adhäsive Substrate einer komplexen Matrix wie Fibrinogen, Fibrin, Thrombospondin, Vitronektin und Fibronektin. Diese initiale Aggregationsphase erfordert keine löslichen Agonisten wie ADP, Thromboxan $A_2$ oder Thrombin, wodurch die Aggregate reversibel bleiben. Nach Abbremsen der Thrombozyten aus der schnellen Strömung können auch Integrin $\alpha_2\beta_1$ oder GP VI an Kollagen binden und dadurch die Thrombusbildung fördern (Savage 1998; Clemetson u. Clemetson 2001; Kato 2003; Nieswandt u. Watson 2003).

Ist vWF an Kollagen gebunden, so findet selbst bei höchsten Scherraten innerhalb von Sekunden der Übergang von rollenden Thrombozyten zu einer stabilen Adhäsion statt (Savage et al. 1998), was auf eine schnelle Aktivierung hinweist. Eine Aktivierungsverstärkung kann durch Signale erfolgen, die durch mechanische Stimulation der vWF–GP-Ibα-Bindung unter Dehnspannung (Mazzucato et al. 2002) oder aber allein durch die biochemische Bindung von vWF an GP Ibα (Nesbitt et al. 2002) entsteht. Solche Signale, die den Anstieg zytosolischen Kalziums und die Aktivierung der Proteinkinase C sowie der Tyrosinkinase einschließen, sind zwar unter statischen Bedingungen vorhanden (Kasirer-Friede et al. 2002; Kasirer-Friede et al. 2004), scheinen aber ihre volle Bedeutung für die Thrombozytenaktivierung besonders unter Strömungsbedingungen mit hohem Scherstress zu entfalten (Mazzucato et al. 2002).

Ein erster Kalziumanstieg aus intrazellulären Speichern erfolgt während des initialen, reversiblen Plättchenkontakts mit immobilisiertem vWF. Hierbei wirkt freigesetztes ADP über den $P2Y_1$-ADP-Rezeptor ebenfalls verstärkend. Ein zweites Signal – durch transmembranösen Kalziumfluss ausgelöst – tritt auf, wenn die Thrombozyten über Integrin $\alpha_{IIb}ß_3$ stabil adhärieren. Dieser zweite Schritt der Signalverstärkung scheint für die nachfolgende Aggregation notwendig zu sein, bei der ein zweiter ADP-Rezeptor, $P2Y_{12}$, beteiligt ist. Durch die ADP-Wirkung an seinen Plättchenrezeptoren $P2Y_1$ und $P2Y_{12}$ wird also die Aktivierung des Integrins $\alpha_{IIb}ß_3$ wesentlich eingeleitet und aufrechterhalten (Gachet 2001). Ingesamt zeigen Arbeiten der letzten Jahre, dass sich ein komplexes Repertoire an Adhäsions- und Signalrezeptoren auf der Thrombozytenoberfläche befindet und die Stabilität des wachsenden Aggregates reguliert (Brass 2005).

Allgemein gilt, dass GP Ib und Integrin $\alpha_{IIb}ß_3$ ohne einen Kostimulus nur eine unzureichende globale Plättchenaktivierung auslösen (Jackson 2003). Die meisten Modelle der Thrombusentstehung gehen von einer Schlüsselrolle von Kollagen und möglicherweise aus der Gefäßwand entstehendem Thrombin für die Aktivierung adhärenter Thrombozyten aus. Die daran anschließende weitere Thrombusausbreitung (»propagation«) durch Plättchenaggregation ist primär durch sezernierte Agonisten wie ADP, Thromboxan $A_2$ ($TxA_2$) und Thrombin angetrieben. Hierbei ist jedoch zu beachten, dass durch lösliche Agonisten keine Rekrutierung vorbeifließender Thrombozyten in einen wachsenden Thrombus erfolgen kann, sondern nur durch Adhäsionsrezeptoren.

### 8.2.2 Fibronektin- und vWF-vermittelte Aggregation unter Scherbelastung

Haftet eine erste Thrombozytenschicht an einer thrombogenen Oberfläche, so stellen die dem Blutstrom zugewandten Thrombozytenmembranen und nicht mehr die Gefäßwandproteine die Bindungsstelle für weitere, aus der schnellen Strömung zu akquirierende Plättchen dar. Damit aber die Thrombozyten bei arteriellen Scherraten von 1.500 $s^{-1}$ und höher zur Haftung gebracht werden können, muss plasmatischer vWF auf der Oberfläche dieser adhärenten und aktivierten Thrombozyten gebunden werden. Dieser Vorgang umfasst neben der GP-Ibα-Interaktion mit der vWF-A1-Domäne auch die Bindung der Arg-Gly-Asp-Sequenz des Integrins $\alpha_{IIb}\beta_3$ an die C1-Domäne des vWF (Ruggeri et al. 1983; Goto et al. 1995). In arterieller Strömung kann innerhalb der ersten 1,5 min eine transiente Plättchenaggregation allein durch vWF aufrechterhalten werden, zerfällt aber danach wieder. Nur bei gleichzeitiger Anwesenheit von Fibrinogen werden die Aggregate dauerhaft stabilisiert (Ruggeri et al. 1999), d. h. im Plasma gelöstes Fibrinogen bindet an den Integrin-$\alpha_{IIb}\beta_3$-Rezeptor aktivierter Plättchen (Ruggeri et al. 1999; Donadelli et al. 2006; Ruggeri et al. 2006).

In den letzten Jahren wurde durch experimentelle Arbeiten zunehmend die Rolle von Fibronektin für die Adhäsion und Aggregation erkannt. So zeigten Untersuchungen an In-vivo-Modellen, dass trotz Abwesenheit von vWF und Fibrinogen die Fähigkeit zur Thrombusbildung in Arteriolen durch Fibronektin fortbesteht (Ni et al. 2000) und andererseits unter Strömung mit niedrigen Fibronektinkonzentrationen im Plasma die Thrombusbildung vermindert ist (Bastida et al. 1987; Ni et al. 2003; Matsukova et al. 2006). Dies deutete auf eine Rolle von Fibronektin bei der scherabhängigen Aggregation hin.

Fibronektin scheint an allen Thrombusstadien von der Initiierung über das Wachstum bis zur Stabilisierung beteiligt zu sein. So verstärkt vernetzendes Fibronektin zusammen mit polymerisierendem Fibrin und Plasmafibronektin synergistisch die Thrombozytenadhäsion, -aggregation und das Thrombuswachstum (Cho u. Mosher 2006a). Zusätzlich bindet Fibronektin andere aggregationsvermittelnde Proteine wie Fibrinogen und Thrombospondin, wodurch die thrombozytäre Wechselwirkung stabilisiert werden kann (Cho u. Mosher 2006b). Ähnlich wie vWF ändert auch Fibronektin unter mechanischer Belastung seine Konformation (Hynes 1999), was seine Rolle bei der Thrombusbildung unter hohen Scherraten erklären könnte.

Die bisherige Vorstellung von der Thrombozytenaktivierung als unabdingbare Voraussetzung für Aggregation scheint aufgrund neuerer Arbeiten korrigiert werden zu müssen. Bei extrem hohen Scherraten, wie sie in einer atherosklerotisch stenosierten Arterie oder bei einer blutenden Gefäßverletzung auftreten können, kann eine reversible Plättchenaggregation ohne vorhergehende Aktivierung der Thrombozyten stattfinden (Abb. 8.4) (Ruggeri et al. 2006). Voraussetzungen sind die Anwesenheit von löslichem vWF und Scherraten oberhalb von 10.000 $s^{-1}$. Oberhalb dieser Schwelle wird das vWF-Molekül langgestreckt und die A1-Bindungsdomänen werden exponiert, wodurch Plättchen über ihren GP-Ibα-Rezeptor aggregieren können.

Ist vWF an der Gefäßwand immobilisiert und steigen die Scherraten über 20.000 $s^{-1}$, so werden haftende Plättchen zu über 10 μm langen Membranstrukturen deformiert und dienen als Ausgangspunkt von Aggregaten, die – ohne zusätzliche Aktivierung – nur durch GP-Ib-vWF-Interaktion mehrere Minuten bestehen bleiben können. In Bereichen mit hohen Scherraten – und möglichem hohem Blutverlust

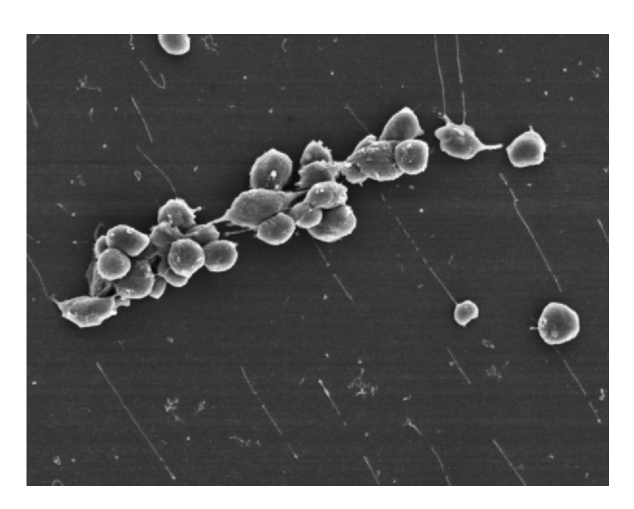


**Abb. 8.4.** Reversibles Aggregat aus nichtaktivierten Thrombozyten. Bei Scherraten von 10.000 $s^{-1}$ und Anwesenheit von löslichem vWF entstandenes Aggregat, das an einer vWF-beschichteten Oberfläche adhäriert. Die Fixierung erfolgte während der Strömung. Die Spuren zuvor vorbeigeströmter Plättchen sind an den adhärenten abgetrennten »tethers« zu erkennen; Primärvergrößerung 4.000-fach

– stellt dieser Mechanismus eine schnelle Ablagerung großer Plättchenmengen sicher, die durch anschließende Aktivierung stabilisiert werden können. Eine blutende Gefäßverletzung würde damit effektiv verschlossen, in einer atherosklerotisch stenosierten Arterie handelte es sich hingegen um einen fehlgeleiteten hämostatischen Prozess.

### 8.2.3 Aggregatstabilisierung durch Fibrininteraktion

Thrombozytenaggregate stellen eine große Masse an prokoagulatorischen Membranen dar, an deren Oberflächen Gerinnungsfaktoren komplexiert und aktiviert werden. Damit läuft die Fibrinpolymerisation um ein Vielfaches beschleunigt ab. Zusätzlich besitzen Thrombozyten mRNA zur schnellen Produktion von Tissue Factor, dem effektivsten Trigger der extrinsischen Gerinnung (Schwertz et al. 2006). Die entstandenen Fibrinfasern stabilisieren die Thrombozytenaggregate zusätzlich gegen Abriss durch Scherkräfte. Bei physiologischer Hämostase schreitet der Ablagerungsprozess der Plättchen bis zum Sistieren der Blutung fort, während bei pathologischer Thrombose eine Okklusion des Gefäßes den Endpunkt darstellt.

Bei der Interaktion mit Gerinnungsproteinen scheinen die größeren vWF-Multimere bevorzugt an Fibrin zu binden – unabhängig davon, ob dieses quervernetzt ist oder nicht (Ribes u. Francis 1990) –, gefolgt von einer kovalenten Quervernetzung der vWF-Multimere mit der α-Kette des Fibrins (Hada et al. 1986). Zusätzlich verstärkt vWF den Einbau von Thrombozyten in polymerisierendes Fibrin (Loscalzo et al. 1986) sowie die Adhäsion von Plättchen an Fibringerinnseln (Hantgan 1990). Glykoprotein Ibα und Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ sind ebenfalls an der Plättchenadhäsion an Fibrin in strömendem Blut beteiligt (Hantgan et al. 1990).

### 8.2.4 Gerinnungsaktive, scherinduzierte Mikropartikel

Reißen hämodynamische Kräfte die Thrombozyten von ihren »tethers« ab, wenn diese erst gering ausgebildet sind, so besitzen sie eine kleine kugelige Form mit einem Durchmesser von 70–100 nm und entsprechen damit typischen »platelet derived microparticles« – aus Thrombozyten entstandenen Mikropartikeln. An ihrer Membranoberfläche finden sich ebenso wie bei den Thrombozyten die Adhäsionsrezeptoren GP Ib und Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ sowie Phosphatidylserin und Tissue Factor (Reininger et al. 2006). Diese gerinnungsaktiven Mikropartikel erreichen aufgrund ihrer geringen Größe Strömungsnischen, die den Thrombozyten verwehrt sind, und können so zusätzlich zu den Plättchen die thrombusstabilisiernde Fibrinbildung verstärken.

### Literatur

Alon R, Hammer DA, Springer TA (1995) Lifetime of the P-selectin-carbohydrate bond and its response to tensile force in hydrodynamic flow. Nature 374: 539–542

Arya M, Lopez JA, Romo GM (2002) Measurement of the Binding Forces Between von Willebrand Factor and Variants of Platelet Glycoprotein Ibα Using Optical Tweezers. Lasers in Surgery and Medicine 30: 306–312

Back LD, Radbill JR, Crawford DW (1977) Analysis of pulsatile, viscous blood flow through diseased coronary arteries of man. J Biomech 10: 339–353

Basmadjian D (1990) The effect of flow and mass transport in thrombogenesis. Ann Biomed Eng 18: 685–709

Bastida E, Escolar G, Ordinas A (1987) Fibronektin is required for platelet adhesion and for thrombus formation on subendothelium and collagen surfaces. Blood 70: 1437–1442

Baumgartner HR (1973) The role of blood flow in platelet adhesion, fibrin deposition, and formation of mural thrombi. Microvasc Res 5: 167–179

Brass LF, Zhu L, Stalker TJ (2005) Minding the gaps to promote thrombus growth and stability. J Clin Invest 115: 3385–3392

Carr RT, Xiao J (1995) Plasma skimming in vascular trees: numerical estimates of symmetry recovery lengths. Microcirculation 2: 345–353

Cho J, Mosher DF (2006a) Enhancement of thrombogenesis by plasma fibronektin cross-linked to fibrin and assembled in platelet thrombi. Blood 107: 3555–3563

Cho J, Mosher DF (2006b) Role of fibronektin assembly in platelet thrombus formation. J Thromb Haemost 4: 1461–1469

Clemetson KJ, Clemetson JM (2001) Platelet collagen receptors. Thromb Haemost 86: 189–197

Cramer EM, Breton-Gorius J, Beesley JE (1988) Ultrastructural demonstration of tubular inclusions coinciding with von Willebrand factor in pig megakaryocytes. Blood 71: 1533–1538

Donadelli R, Orje JN, Capoferri C et al. (2006) Size regulation of von Willebrand factor-mediated platelet thrombi by ADAMTS13 in flowing blood. Blood 107: 1943–1950

Dopheide SM, Maxwell MJ, Jackson SP (2002) Shear-dependent tether formation during platelet translocation on von Willebrand factor. Blood 99: 159–167

Evans EA, Skalak R (1979) Mechanics and thermodynamics of biomembranes: part 1. CRC Crit Rev Bioeng 3: 181–330

Fernandez MF, Ginsberg MH, Ruggeri ZM et al. (1982) Multimeric structure of platelet factor VIII/von Willebrand factor: the presence of larger multimers and their reassociation with thrombin-stimulated platelets. Blood 60: 1132–1138

Gachet C (2001) ADP receptors of platelets and their inhibition. Thromb Haemost 86: 222–232

Gaehtgens P (1981) Distribution of flow and red cell flux in the microcirculation. Scand J Clin Lab Invest Suppl 156: 83–87

Goldsmith HL, Turitto VT (1986) Rheological aspects of thrombosis and haemostasis: basic principles and applications. ICTH-Report-Subcommittee on Rheology of the International Committee on Thrombosis and Haemostasis. Thromb Haemost 55: 415–435

Goldsmith HL, Cokelet G, Gaehtgens P (1989) Robin Fahraeus: Evolution of his concepts cardiovascular physiology. Am J Physiol 257: H1005–H1015

Goto S, Salomon DR, Ikeda Y et al. (1995) Characterization of the unique mechanism mediating the shear-dependent binding of soluble von Willebrand factor to platelets. J Biol Chem 270: 23352–23361

Hada M, Kaminski M, Bockenstedt P et al. (1986) Covalent crosslinking of von Willebrand factor to fibrin. Blood 68: 95–101

Hantgan RR, Hindriks G, Taylor RG (1990) Glycoprotein Ib, von Willebrand factor, and glycoprotein IIb: IIIa are all involved in platelet adhesion to fibrin in flowing whole blood. Blood 76: 345–353

Harrison RL, McKee PA (1984) Estrogen stimulates von Willebrand factor production by cultured endothelial cells. Blood 63: 657–664

Hynes RO (1999) The dynamic dialogue between cells and matrices: implications of fibronektin's elasticity. Proc Natl Acad Sci USA 96: 2588–2590

Jackson SP, Nesbitt WS, Kulkarni S (2003) Signaling events underlying thrombus formation. J Thromb Haemost 1: 1602–1612

Jurk K, Clemetson KJ, de Groot PG et al. (2003) Thrombospondin-1 mediates platelet adhesion at high shear via glycoprotein Ib (GP Ib): an alternative/backup mechanism to von Willebrand factor. FASEB J 17: 1490–1492

Karnis A, Goldsmith HL, Mason SG (1963) Axial migration of particles in Poiseuille flow. Nature 200: 159–160

Kasirer-Friede A, Ware J, Leng L et al. (2002) Lateral clustering of platelet GP Ib-IX complexes leads to up-regulation of the adhesive function of integrin alpha IIbbeta 3. J Biol Chem 277: 11949–11956

Kasirer-Friede A, Cozzi MR, Mazzucato M et al. (2004) Signaling through GP Ib-IX-V activates alpha IIb beta 3 independently of other receptors. Blood 103: 3403–3411

Kato K, Kanaji T, Russell S et al. (2003) The contribution of glycoprotein VI to stable platelet adhesion and thrombus formation illustrated by targeted gene deletion. Blood 102: 1701–1707

Koutts J, Walsh PN, Plow EF et al. (1978) Active release of human platelet factor VIII-related antigen by adenosine diphosphate, collagen, and thrombin. J Clin Invest 62: 1255–1263

Livio M, Gotti E, Marchesi D et al. (1982) Uraemic bleeding: role of anaemia and beneficial effect of red cell transfusions. Lancet 2: 1013–1015

Loscalzo J, Inbal A, Handin RI (1986) von Willebrand protein facilitates platelet incorporation in polymerizing fibrin. J Clin Invest 78: 1112–1119

Mailhac A, Badimon JJ, Fallon JT et al. (1994) Effect of an eccentric severe stenosis on fibrin(ogen) deposition on severely damaged vessel wall in arterial thrombosis. Relative contribution of fibrin(ogen) and platelets. Circulation 90: 988–996

Matuskova J, Chauhan AK, Cambien B et al. (2006) Decreased plasma fibronektin leads to delayed thrombus growth in injured arterioles. Arterioscler Thromb Vasc Biol 26: 1391–1396

Maxwell MJ, Westein E, Nesbitt WS et al. (2007) Identification of a 2-stage platelet aggregation process mediating shear-dependent thrombus formation. Blood 109: 566–576

Mayadas TN, Wagner DD (1991) von Willebrand factor biosynthesis and processing. Ann NY Acad Sci 614: 153–166

Mazzucato M, Pradella P, Cozzi MR et al. (2002) Sequential cytoplasmic Kalzium signals in a 2-stage platelet activation process induced by the glycoprotein Ibalpha mechanoreceptor. Blood 100: 2793–2800

Nesbitt WS, Kulkarni S, Giuliano S et al. (2002) Distinct glycoprotein Ib/V/IX and integrin alpha IIbbeta 3-dependent Kalzium signals cooperatively regulate platelet adhesion under flow. J Biol Chem 277: 2965–2972

Ni H, Denis CV, Subbarao S et al. (2000) Persistence of platelet thrombus formation in arterioles of mice lacking both von Willebrand factor and fibrinogen. J Clin Invest 106: 385–392

Ni H, Yuen PS, Papalia JM et al. (2003) Plasma fibronektin promotes thrombus growth and stability in injured arterioles. Proc Natl Acad Sci USA 100: 2415–2419

Nieswandt B, Watson SP (2003) Platelet-collagen interaction: is GPVI the central receptor? Blood 102: 449–461

Perkkio J, Wurzinger LJ, Schmid-Schonbein H (1987) Plasma and platelet skimming at T-junctions. Thromb Res 45: 517–526

Raucher D, Sheetz MP (1999) Characteristics of a membrane reservoir buffering membrane tension. Biophys J 77: 1992–2002

Reininger AJ, Heijnen HF, Schumann H et al. (2006) Mechanism of platelet adhesion to von Willebrand factor and microparticle formation under high shear stress. Blood 107: 3537–3545

Ribes JA, Francis CW (1990) Multimer size dependence of von Willebrand factor binding to crosslinked or noncrosslinked fibrin. Blood 75: 1460–1465

Ruggeri, ZM (2003) Von Willebrand factor: a matrix protein that tries to be soluble. Blood 101: 2450

Ruggeri ZM, Bader R, De Marco L (1982a) Glanzmann thrombasthenia: deficient binding of von Willebrand factor to thrombin-stimulated platelets. Proc Natl Acad Sci USA 79: 6038–6041

Ruggeri ZM, Mannucci PM, Lombardi R et al. (1982b) Multimeric composition of factor VIII/von Willebrand factor following administration of DDAVP: implications for pathophysiology and therapy of von Willebrand's disease subtypes. Blood 59: 1272–1278

Ruggeri ZM, De Marco L, Gatti L et al. (1983) Platelets have more than one binding site for von Willebrand factor. J Clin Invest 72: 1–12

Ruggeri ZM, Dent JA, Saldívar E (1999) Contribution of distinct adhesive interactions to platelet aggregation in flowing blood. Blood 94: 172–178

Ruggeri ZM, Orje JN, Habermann R (2006) Activation-independent platelet adhesion and aggregation under elevated shear stress. Blood 108: 1903–1910

Savage B, Saldivar E, Ruggeri ZM (1996) Initiation of platelet adhesion by arrest onto fibrinogen or translocation on von Willebrand factor. Cell 84: 289–297

Savage B, Almus-Jacobs F, Ruggeri ZM (1998) Specific synergy of multiple substrate-receptor interactions in platelet thrombus formation under flow. Cell 94: 657–666

Savage B, Sixma JJ, Ruggeri ZM (2002) Functional self-association of von Willebrand factor during platelet adhesion under flow. Proc Natl Acad Sci USA 99: 425–430

Schneider SW, Nuschele S, Wixforth A et al. (2007) Shear-induced unfolding triggers adhesion of von Willebrand factor fibers. Proc Natl Acad Sci USA 104: 7899–7903

Schwertz H, Tolley ND, Foulks JM et al. (2006) Signal-dependent splicing of tissue factor pre-mRNA modulates the thrombogenicity of human platelets. J Exp Med 203: 2433–2440

Shankaran H, Alexandridis P, Neelamegham S (2003) Aspects of hydrodynamic shear regulating shear-induced platelet activation and self-association of von Willebrand factor in suspension. Blood 101: 2637–2645

Shao JY, Ting-Beall HP, Hochmuth RM (1998) Static and dynamic lengths of neutrophil microvilli. Proc Natl Acad Sci USA 95: 6797–6802

Siedlecki CA, Lestini BJ, Kottke-Marchant KK et al (1996) Shear-dependent changes in the three-dimensional structure of human von Willebrand factor. Blood 88: 2939–2950

Slichter SJ, Harker LA (1978) Thrombocytopenia: mechanisms and management of defects in platelet production. Clin Haematol 7: 523–539

Stel HV, Sakariassen KS, de Groot PG (1985) Von Willebrand factor in the vessel wall mediates platelet adherence. Blood 65: 85–90

Strony J, Beaudoin A, Brands D et al. (1993) Analysis of shear stress and hemodynamic factors in a model of coronary artery stenosis and thrombosis. Am J Physiol 265: H1787–H1796

Turitto VT, Weiss HJ, Zimmerman TS (1985) Factor VIII/von Willebrand factor in subendothelium mediates platelet adhesion. Blood 65: 823–831

Wagner DD (1990) Cell biology of von Willebrand factor. Annu Rev Cell Biol 6: 217–246

Walter O, Reininger AJ (2003) Mechanisms of von Willebrand Factor. CSL Behring, speakers booklet and slide kit

# 9 Thrombozytäre Signaltransduktion

*S. Offermanns*

## Einleitung

Die Bildung eines thrombozytenreichen Thrombus v. a. im Bereich arterieller Gefäßschädigungen nimmt ihren Anfang mit der raschen Adhäsion und Aktivierung zirkulierender Thrombozyten an der nach Endothelschädigung exponierten extrazellulären Matrix. Insbesondere die Exposition subendothelialer Kollagenfasern nach Verletzung oder Plaqueruptur stellt einen sehr starken thrombozytenaktivierenden Reiz dar, der eine Kaskade von Prozessen in Gang setzt. Unmittelbar im Anschluss daran werden weitere Thrombozyten rekrutiert und das koagulatorische System wird aktiviert, was schließlich zur Bildung des durch Fibrin stabilisierten Thrombus führt.

Die Fähigkeit von Thrombozyten, binnen kürzester Zeit auf entsprechende Stimuli hin einen Thrombus zu bilden, wird unter normalen Bedingungen durch das intakte Endothel sowie durch endotheliale antithrombozytäre Faktoren (z. B. Prostazyklin und Stickstoffmonoxid) verhindert. Die Regulation von aktivierenden und inhibitorischen Einflüssen auf das thrombozytäre System beruht auf verschiedenen Mediatoren, die über Rezeptoren auf der Thrombozytenoberfläche bestimmte intrazelluläre Signaltransduktionsprozesse beeinflussen und dadurch die Auslösung thrombozytärer Reaktionen wie Shape-Change, Degranulation und Aggregation steuern.



## 9.1 Thrombozytenaktivierung

Die Adhäsion und Aktivierung von Thrombozyten im Bereich endothelialer Schädigungen beruht auf einem mehrstufigen Prozess, den man in 3 sich teilweise überlagernde Stadien einteilen kann: Initiierung, Extension und Stabilisierung (◘ Abb. 9.1). Im Rahmen der Initiierung der Thrombozytenaktivierung nehmen Thrombozyten in einer rollenden Bewegung Kontakt mit der Gefäßwand auf, und es kommt zunächst zur Adhäsion von Thrombozyten v. a. über den Rezeptor Glykoprotein (GP) Ib-IX-V, der an subendothelial exponierten Von-Willebrand-Faktor (vWF) bindet.

Die primäre Aktivierung der Thrombozyten erfolgt durch Bindung von GP VI/FcRγ an Kollagen. Dies hat die Aktivierung von Integrinen sowie die Freisetzung und Bildung diffusibler Mediatoren wie Adenosindiphosphat (ADP), Thromboxan $A_2$ ($TxA_2$) und Thrombin zur Folge. Diese diffusiblen Mediatoren vermitteln nun durch Aktivierung G-Protein-gekoppelter Rezeptoren die Rekrutierung weiterer Thrombozyten in den wachsenden thrombozytenreichen Thrombus. Das auf diesem Wege entstandene Thrombozytenaggregat wird stabilisiert durch Wechselwirkungen verschiedener transmembranärer Rezeptor- und Adhäsionsmoleküle (◘ Abb. 9.1b).

### 9.1.1 Initiierung

Der initiale Kontakt von Thrombozyten mit der geschädigten Gefäßwand wird insbesondere unter den Bedingungen hoher Schubspannung des arteriellen Systems durch vWF vermittelt (Ruggeri 2003), der nach Bindung an Kollagenfasern der extrazellulären Matrix eine Konformationsänderung vollzieht. Kollagengebundener vWF interagiert unter diesen Bedingungen äußerst rasch mit dem GP Ib des GP-Ib-IX-V-Komplexes auf Thrombozyten. Wahrscheinlich spielen die durch die Bindung des vWF an GP Ib-IX-V ausgelösten Signaltransduktionsprozesse (Du 2007; Ozaki et al. 2005) für die Aktivierung von Thrombozyten nur eine untergeordnete Rolle.

Die Interaktion von Thrombozyten mit dem extrazellulären Matrixprotein Kollagen, die durch die Anlagerung an die verletzte Gefäßwand ermöglicht wird, setzt hingegen den entscheidenden initialen Aktivierungsprozess in Gang (Kahn 2004). Kollagen aktiviert verschiedene Rezeptoren auf Thrombozyten, von denen GP VI die größte Bedeutung besitzt (Nieswand u. Watson 2003; Watson et al. 2005). GP VI gehört zur Immunglobulindomänen-Superfamilie von Transmembranproteinen und ist konstitutiv mit der γ-Kette des Fc-Rezeptors (FcRγ) assoziiert.

Die Signaltransduktionsprozesse nach GP-IV-Aktivierung sind in ◘ Abb. 9.2 dargestellt. Das durch Kollagen ausgelöste »clustering« von GP VI/FcRγ führt durch Src-Tyrosinkinasen wie Fyn und Lyn zur Tyrosinphosphorylierung der γ-Kette im Bereich des Immunrezeptor-Tyrosin-abhängigen Aktivierungsmotivs (ITAM), wodurch es zur Assoziation und Aktivierung der Tyrosinkinase Syk kommt. Syk initiiert dann eine Reihe von Signaltransduktionskaskaden, die viele Ähnlichkeiten mit den durch T- und B-Zell-Rezeptoren ausgelösten Signaltransduktionsprozessen besitzen (Watson et al. 2005).

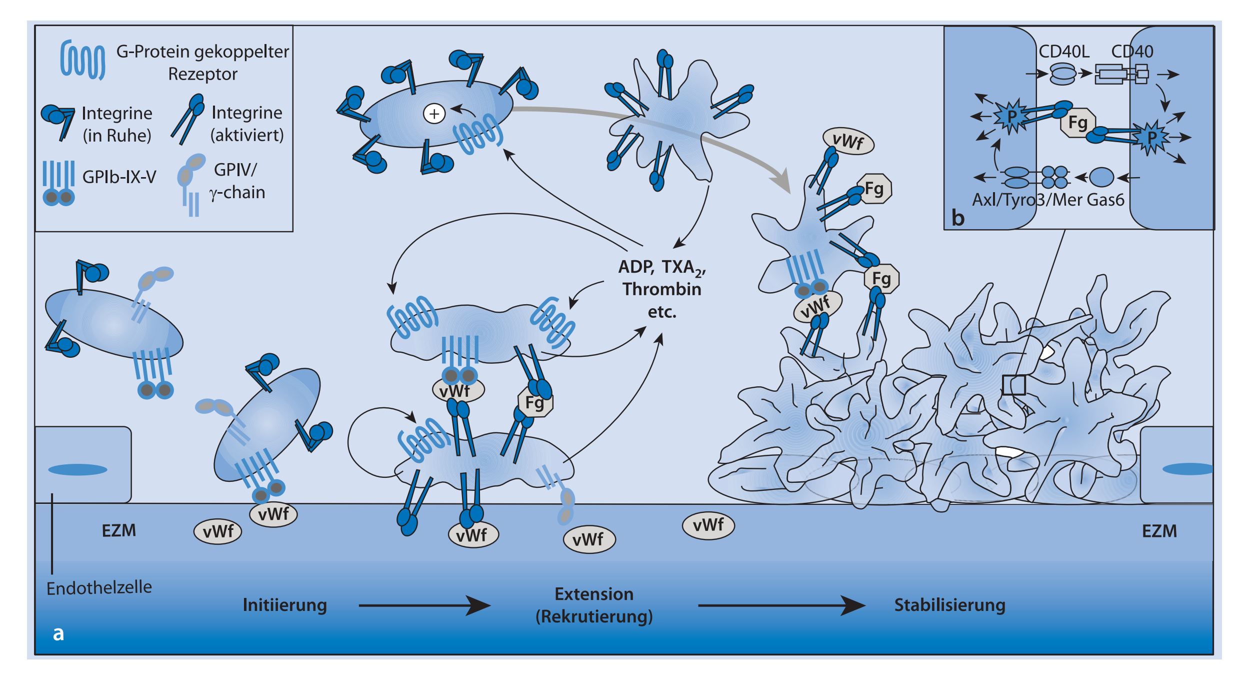



**Abb. 9.1.** Mechanismen der Thrombozytenaktivierung im Bereich einer Endothelläsion. *ADP* Adenosindiphosphat; *Axl/Tyro3/Mer* »anexelekto/protein tyrosine kinase 3/gene expressed in monocytes and tissues of epithelial and reproductive origin«; *CD* »cluster of differentiation«; *EZM* extrazelluläre Matrix; *Fg* Fibrinogen; *GAS6* »growth arrest specific gene 6«; *GP* Glykoprotein; *TXA2* Thromboxan A2; *vWf* Von-Willebrand-Faktor

Im Rahmen der durch Kollagenbindung an GP VI ausgelösten Syk-Aktivierung kommt es zur Ausbildung eines Signaltransduktionskomplexes, der aus einer Reihe von Adapter- und Effektorproteinen besteht. Dabei bildet das transmembranäre Adapterprotein LAT (»linker for activation of T cells«) den wichtigsten Bestandteil dieses Komplexes. Daneben finden sich die zytosolischen Adapterproteine SLP-76 (»SH2 domain-containing Leukocyte Protein of 76 kDa«) sowie Gads, die Tyrosinkinase Tec und der Guanin-Nukleotid-Austauschfaktor Vav in dem Komplex.

Als wichtigster Effektor der GP-VI-vermittelten Signaltransduktion wird die Phospholipase C$\gamma_2$ (PLC$\gamma_2$) angesehen, deren Aktivierung zur Bildung von Inositol-1,4,5-Trisphosphat ($IP_3$) und Diacylglyzerol (DAG) führt (Abb. 9.2). Während $IP_3$ die Freisetzung von $Ca^{2+}$ aus intrazellulären Speichern induziert, kann DAG einen transmembranären $Ca^{2+}$-Einstrom befördern und zur Aktivierung von Proteinkinase C (PKC) führen. Diese durch GP-VI-Aktivierung ausgelösten intrazellulären Signalprozesse führen u. a. zur Aktivierung von Integrin $\alpha_{II}\beta_1$ sowie Integrin $\alpha_2\beta_3$. Die Interaktion dieser aktivierten Integrine mit vWF, Kollagen und anderen extrazellulären Matrixbestandteilen führt dann zur festen Anheftung der Thrombozyten an die geschädigte Gefäßwand, und es bildet sich ein Thrombozytenmonolayer aus.

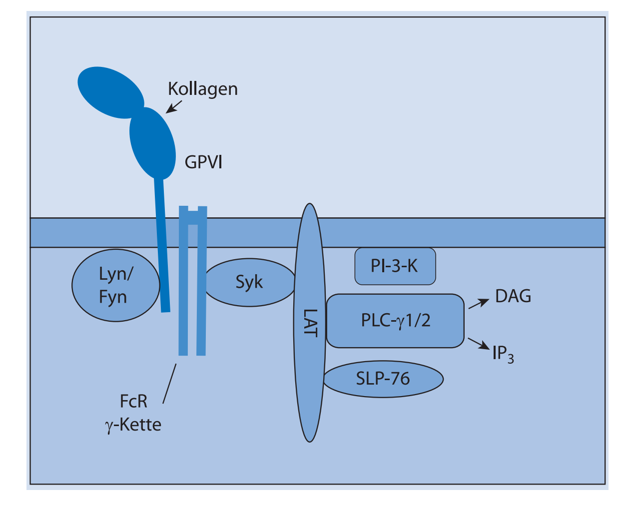



**Abb. 9.2.** Signaltransduktionsprozesse nach GP-VI-Aktivierung. *DAG* Diacylglyzerol; *FcR* Fc-Rezeptor; *GP* Glykoprotein; *$IP_3$* Inositol-1,4,5-Trisphosphat; *PI-3-K* Phosphatidylinositol-3-Kinase; *PLC* Phospholipase C

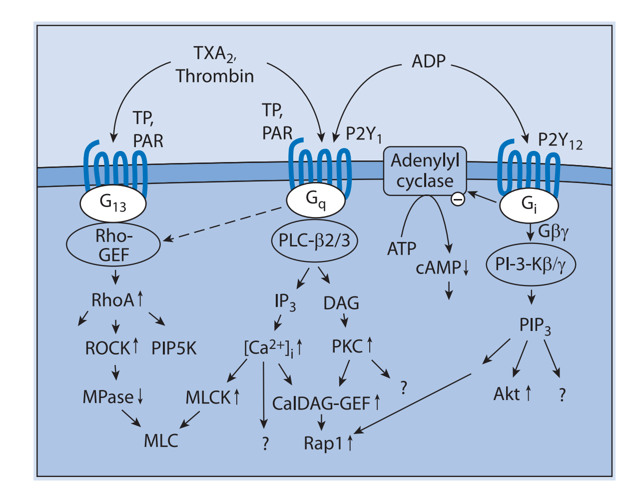
## 9.1.2 Extension

Nach der initialen Adhäsion von Thrombozyten an die Gefäßwand kommt es in der darauffolgenden Phase der Thrombozytenaktivierung zur Ausbildung eines thrombozytenreichen Thrombus durch die Rekrutierung weiterer

Thrombozyten aus der Zirkulation sowie zu deren Aggregation durch Aktivierung des Integrins $\alpha_{IIb}\beta_3$ (▫ Abb. 9.1). Die Rekrutierung von Thrombozyten wird ermöglicht durch eine Reihe lokal akkumulierender Mediatoren, die von aktivierten Thrombozyten gebildet oder freigesetzt werden. Dazu gehören insbesondere Adenosindiphosphat (ADP), Thromboxan $A_2$ ($TxA_2$) sowie Thrombin.

Diese diffusiblen Mediatoren der Extensionsphase haben gemeinsam, dass sie durch Aktivierung G-Protein-gekoppelter Rezeptoren auf Thrombozyten ihre Wirkung ausüben. Dabei führt die Aktivierung G-Protein-vermittelter Signaltransduktionswege in Thrombozyten zur weiteren Steigerung der eigenen Bildung und Freisetzung im Sinne eines positiven Feedback-Mechanismus, der die Amplifikation des initialen Signals und damit die Sicherstellung einer sehr schnellen Aktivierung und Rekrutierung von Thrombozyten in den wachsenden Thrombus bewirkt (Offermanns 2006).

ADP liegt in hohen Konzentrationen in den Granula der Thrombozyten gespeichert vor und wird nach Aktivierung im Rahmen des Degranulationsprozesses freigesetzt. Freigesetztes ADP wirkt in autokriner und parakriner Weise über die Aktivierung von 2 G-Protein-gekoppelten Rezeptoren, $P2Y_1$ und $P2Y_{12}$ (Gachet 2006; Murugappa u. Kunapuli 2006). Während $P2Y_1$ an das G-Protein $G_q$ koppelt, interagiert $P2Y_{12}$ mit G-Proteinen des $G_i$-Typs, insbesondere mit $G_{i2}$ (▫ Abb. 9.3, ▫ Tab. 9.1). Die Aktivierung beider Rezeptoren ist für einen vollen ADP-Effekt auf Thrombozyten erforderlich.




▫ **Abb. 9.3.** Signaltransduktionsprozesse nach Thrombozytenaktivierung durch Thrombin, $TxA_2$ und ADP über spezifische G-Protein-gekoppelte Rezeptoren. *CalDAG-GEF* »calcium and diacyl glycerol-regulated guanine nucleotide exchange factor«; *DAG* Diacylglyzerol; *FcR* Fc-Rezeptor; *$IP_3$* Inositol-1,4,5-Trisphosphat; *$PIP_{5K}$* Phosphatidylinositol-4-Phosphat-5-Kinase; *MLC* leichte Kette des Myosins; *MLCK* Myosin-leichte-Ketten-Kinase; *MPase* Myosinphosphatase; *PAR* »protease activated receptor«; *PLC* Phospholipase C; *PI-3-K* Phosphatidylinositol-3-Kinase; $PIP_3$ Phosphatidylinositol-3,4,5-Trisphosphat; *RhoGEF* Rho-Guanin-Nukleotid-Austauschfaktor; *ROCK* Rho-Kinase; *TP* Thromboxan-$A_2$-Rezeptor

▫ **Tab. 9.1.** G-Protein-gekoppelte Rezeptoren auf humanen Thrombozyten

| Agonist | Rezeptor | G-Protein | Rezeptoren pro Thrombozyt |
|---|---|---|---|
| ADP | $P2Y_1$ | $G_q$ | ~150 |
| | $P2Y_{12}$ | $G_{i2}$, $G_{i3}$ | ~500 |
| Thrombin | PAR-1 | $G_q$, $G_{12}/G_{13}$, ($G_i$) | ~1.800 |
| | PAR-4 | $G_q$, $G_{12}/G_{13}$ | ? |
| TxA2 | TP | $G_q$, $G_{12}/G_{13}$ | ~1.000 |
| Adrenalin | $\alpha_{2A}$ | $G_i/G_z$ | ~300 |
| Serotonin | $5\text{-}HT_{2A}$ | $G_q$ | ? |
| $PGI_2$ | IP | $G_s$ | ? |
| $PGE_2$ | $EP_3$ | G | ? |

Interessanterweise führt die Blockade von ADP-Rezeptoren zur Abschwächung der durch Thrombin und Thromboxan $A_2$ ausgelösten Thrombozytenaktivierung. Dies unterstreicht die Bedeutung von ADP als positiver Feedback-Mediator, der für eine anhaltende Aktivierung von Thrombozyten durch verschiedene Stimuli erforderlich ist. Der ADP-Rezeptor $P2Y_{12}$ wird durch Metabolite von Thienopyridinen wie z. B. Clopidogrel irreversibel inaktiviert – ein pharmakologischer Ansatz, der insbesondere bei der Sekundärprävention kardiovaskulärer Ereignisse von Bedeutung ist.

Thrombin ist die zentrale Effektorprotease des koagulatorischen Systems und gleichzeitig einer der stärksten direkten Aktivatoren von Thrombozyten. Die Bildung von Thrombin durch den Prothrombinasekomplex findet an zellulären Oberflächen einschließlich der Oberfläche aktivierter Thrombozyten statt (Heemskerk et al. 2002). Die Aktivierung von Thrombozyten durch Thrombin wird durch proteaseaktivierte Rezeptoren (PAR) vermittelt, die vornehmlich an die G-Proteine $G_q$ und $G_{12}/G_{13}$, in einigen Fällen auch an $G_i$, koppeln (Coughlin 2005; ▫ Tab. 9.1).

Von den 4 proteaseaktivierten Rezeptoren besitzen humane Thrombozyten die Subtypen 1 und 4 (PAR-1 und PAR-4). PAR-1 scheint dabei vor allen Dingen die Thrombozytenaktivierung in Gegenwart niedriger Thrombinkonzentrationen zu vermitteln, während PAR-4 lediglich in Gegenwart hoher Thrombinkonzentrationen aktiviert werden kann. Die höhere Potenz von Thrombin gegenüber PAR-1 beruht auf dem Vorhandensein einer hirudinähnlichen Sequenz in der Nähe der extrazellulären Thrombinschnittstelle von PAR-1, die die Bindung von Thrombin erleichtert und die im PAR-4-Rezeptorsubtyp nicht vorhanden ist.

Ähnlich wie ADP fungiert auch Thromboxan $A_2$ als positiver Feedback-Mediator während der Thrombozytenaktivierung. Thromboxan $A_2$ wird nach Thrombozytenaktivierung aus Arachidonsäure durch die Zyklooxygenase 1 sowie die Thromboxansynthase gebildet. Die thrombozytenfunktionshemmende Wirkung niedrig dosierter Acetylsalicylsäure beruht auf der Hemmung der Thromboxan-$A_2$-Bildung durch Acetylierung und Inaktivierung von Zyklooxygenase 1. Aufgrund der sehr kurzen Halbwertszeit von Thromboxan $A_2$ ist dessen Wirkung lokal begrenzt und wird durch den Thromboxan-$A_2$-Rezeptor (TP) vermittelt. TP koppelt an die G-Proteine $G_q$ und $G_{12}/G_{13}$ (■ Abb. 9.3, ■ Tab. 9.1).

Verschiedene andere Thrombozytenstimuli, die über G-Protein-gekoppelte Rezeptoren wirken, sind beschrieben worden (■ Tab. 9.1). Allerdings sind diese im Gegensatz zu ADP, Thrombin und Thromboxan $A_2$ lediglich schwache Aktivatoren von Thrombozyten und scheinen primär der Potenzierung der Thrombozytenaktivierung durch primäre Stimuli zu dienen. Zu diesen Stimuli gehören Adrenalin, Prostaglandin $E_2$, Serotonin, Lysophosphatidsäure sowie verschiedene Chemokine.

Aufgrund der parallelen Wirkung der diffusiblen Mediatoren ADP, Thromboxan $A_2$ und Thrombin sowie der vielfältigen positiven Feedback-Mechanismen, die nach Thrombozytenaktivierung zu einer weiteren Verstärkung der Mediatorbildung und -freisetzung führen, kommt es am Ende zur parallelen Aktivierung von 3 G-Protein-vermittelten Signaltransduktionsprozessen, die durch die G-Proteine $G_q$, $G_{13}$ und $G_i$ mediiert werden (■ Abb. 9.3):

- Das G-Protein $G_q$ koppelt Rezeptoren an β-Isoformen der Phospholipase C, von denen in Thrombozyten insbesondere die β2- und β3-Isoformen vorkommen. Die Phospholipase-C-Stimulation führt zur Bildung von $IP_3$ und DAG und damit zur Erhöhung der freien zytoplasmatischen $Ca^{2+}$-Konzentration sowie zur Aktivierung von PKC.
- Das G-Protein $G_{13}$ ist in der Lage, Rezeptoren an eine Subfamilie von Guanin-Nukleotid-Austauschfaktoren für die kleine GTPase RhoA zu koppeln. Die daraus resultierende Aktivierung von RhoA führt u. a. zur Stimulation der Rho-Kinase.
- Schließlich kommt es nach Aktivierung von $G_i$-Typ-G-Proteinen zu einer Inhibition der Adenylylzyklase sowie zu einer Aktivierung der Phosphatidylinositol-3-Kinase.

In den letzten Jahren ist zunehmend deutlich geworden, welche Bedeutung die einzelnen G-Protein-vermittelten Signaltransduktionsprozesse im Rahmen der Thrombozytenaktivierung besitzen (Offermanns 2006). Der thrombozytäre Shape-Change ist die erste Reaktion des Thrombozyten auf verschiedene diffusible Mediatoren, die diese Reaktion bereits bei deutlich niedrigeren Konzentrationen hervorrufen können als die Thrombozytendegranulation oder -aggregation. Im Rahmen der Shape-Change-Reaktion kommt es zur Entstehung neuer Aktinfilamente, die zur Bildung eines submembranären Aktinfilamentnetzwerks beitragen, sowie zur Ausbildung von Filopodien. Darüber hinaus werden aktomyosinbasierte kontraktile Prozesse initiiert, die in der Zentralisierung der sekretorischen Granula der Thrombozyten resultieren. Schließlich kommt es zur Depolymerisation des kreisförmigen Mikrotubulibandes, das für die Aufrechterhaltung der plättchenartigen Thrombozytenform von zentraler Bedeutung ist. Mit der Auflösung dieser Mikrotubulistruktur ändert der Thrombozyt seine diskoide in eine sphärische Form.

Für die Auslösung der Shape-Change-Reaktion ist insbesondere die $G_{13}$-vermittelte RhoA-Aktivierung erforderlich, während die durch $G_q$ vermittelte Erhöhung der intrazellulären $Ca^{2+}$-Konzentration alleine nicht ausreichend ist, allerdings zu einer Verstärkung der Shape-Change-Reaktion führt. Ein wesentlicher Mediator der im Rahmen der Shape-Change-Reaktion ablaufenden Reorganisation des Aktinzytoskeletts ist die Phosphorylierung der leichten Kette des Myosins durch eine Rho/Rho-Kinase-vermittelte Inhibition der Myosinphosphatase sowie durch eine $Ca^{2+}$/Calmodulin-vermittelte Aktivierung der Myosin-leichte-Ketten-Kinase (■ Abb. 9.3). Die vermehrte Aktinpolymerisation wird u. a. durch Polyphosphoinositide wie Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat ($PIP_2$) reguliert, deren Bildung durch die Phosphatidylinositol-4-Phosphat-5-Kinase und durch die kleinen GTPasen Rac und RhoA stimuliert werden kann.

Die Aggregation von Thrombozyten im Verlauf der Thrombusextension wird durch das Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ vermittelt, das die extrazellulären Makromoleküle Fibrinogen und vWF bindet. Aufgrund der dimeren Struktur von Fibrinogen und der multimeren Struktur von vWF erlauben diese Proteine eine Kreuzvernetzung der Thrombozyten und somit die Bildung eines Thrombozytenaggregats. In ruhenden Thrombozyten befindet sich das Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ in einer Konformation, die eine sehr geringe Affinität für Fibrinogen und vWF aufweist. Die Aktivierung von Thrombozyten führt zu intrazellulären Signaltransduktionsprozessen, die den zytoplasmatischen Teil von $\alpha_{IIb}\beta_3$ derart beeinflussen, dass es zu einer gravierenden Konformationsänderung kommt (Inside-out-Signal) und $\alpha_{IIb}\beta_3$ nun Fibrinogen und vWF binden und dadurch die Thrombozytenaggregation vermitteln kann (Shattil u. Newman 2004; Bennett 2005).

Auch wenn die genauen Signaltransduktionsmechanismen, über die es nach der Aktivierung G-Protein-gekoppelter Rezeptoren zur Integrinaktivierung kommt, noch nicht vollständig verstanden sind, so ist doch in den letzten Jahren deutlich geworden, dass daran offensichtlich alle 3 G-Protein-vermittelten Signaltransduktionswege beteiligt

sind. Die Blockade eines der 3 Signalwege führt zu einer deutlichen Hemmung der Integrinaktivierung und damit der Thrombozytenaggregation. Möglicher Mediator der Inside-out-Aktivierung über $G_q$-, $G_i$- und $G_{13}$-gekoppelte Rezeptoren ist die kleine GTPase Rap1, die an der Aktivierung einer Reihe von Integrinen beteiligt ist (Bertoni et al. 2002; de Bruyn et al. 2003). Interessanterweise wird das Rap1-aktivierende Protein CalDAG-GEF1, ein Guanin-Nukleotid-Austauschfaktor, durch eine Erhöhung der intrazellulären $Ca^{2+}$-Konzentration sowie durch DAG aktiviert. Es scheint eine wichtige Rolle bei der Stimulation der Thrombozytenaggregation zu spielen (Crittenden et al. 2004). Auch der PI-3-Kinase-vermittelte Signaltransduktionsweg ist kürzlich als ein Mediator der Integrinaktivierung in Thrombozyten beschrieben worden (Jackson et al. 2005; Hirsch et al. 2006).

Die thrombozytäre Sekretion ist ein wichtiger Mechanismus, der zur Amplifikation der Thrombozytenaktivierung führt und darüber hinaus Mediatoren freisetzt, die auf die Zellen der Gefäßwand, aber auch auf andere Blutzellen einwirken können. Thrombozyten besitzen die nötigen Proteinkomponenten zur Ausbildung der sekretorischen Maschinerie, wie sie auch in anderen Zellen mit regulierter Sekretion zu finden sind (Reed 2004). Allerdings sind die Mechanismen, über die die Aktivierung von Thrombozytenoberflächenrezeptoren zu einer Auslösung der Degranulation führt, unklar. Ohne Frage sind die durch das G-Protein $G_q$ vermittelte Erhöhung der zytosolischen $Ca^{2+}$-Konzentration sowie die Aktivierung der PKC essenzielle Stimuli für die Freisetzung thrombozytärer Granula. Der $G_{13}$-vermittelte Signaltransduktionsweg fördert die thrombozytäre Degranulation, ist aber nicht absolut erforderlich für die Regulation dieser Funktion.



### 9.1.3 Stabilisierung

Mit der vor allen Dingen über den Kollagenrezeptor GP VI ausgelösten Initiierung und der über G-Protein-gekoppelte Rezeptoren induzierten Extension ist in kürzester Zeit ein thrombozytenreicher Thrombus entstanden, der stabilisiert werden muss, um seine physiologische Funktion im Rahmen der Hämostase ausüben zu können (Brass et al. 2005; Denis u. Wagner 2007). Ein wichtiger Mechanismus der Stabilisierung beruht auf der Aktivierung von Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ (Outside-in-Signal). Die Bindung von Fibrinogen und die dadurch ausgelöste Konformationsänderung und Clusterung von $\alpha_{IIb}\beta_3$ führt zu einer raschen Tyrosinphosphorylierung des zytoplasmatischen Teils der β3-Untereinheit des Integrins.

Aus Untersuchungen an murinen Thrombozyten kann geschlossen werden, dass die Phosphorylierung von β3 eine entscheidende Rolle für die Stabilisierung des Thrombusaggregats spielt. Die daran im Einzelnen beteiligten molekularen Mechanismen sind nur ansatzweise bekannt. Verschiedene Tyrosinkinasen wie die »focal adhesion kinase« (FAK) und Syk sowie Phospholipase C und PI-3-Kinase sind möglicherweise von Bedeutung.

Neben der Verstärkung der Thrombozyten-Thrombozyten-Interaktionen im Thrombus geht die Stabilisierungsphase auch mit einer Retraktion des Thrombus einher, der auf einer aktomyosinbasierten Kontraktion der Thrombozyten beruht. In jüngster Zeit sind einige autokrine Mechanismen identifiziert worden, die nach Thrombozytenaggregation zu einer Stabilisierung des Thrombus beitragen. So kommt es nach Thrombozytenaktivierung zur Freisetzung von CD40L sowie dem »growth arrest specific gene 6« (GAS6). Diese verstärken durch die Aktivierung von CD40 bzw. der Rezeptortyrosinkinasen Axl/Mer/Tyro3 auf der Oberfläche von Thrombozyten die über Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ ausgelösten Signaltransduktionsprozesse zur Stabilisierung von Thrombozyten. Auch das Ephrin/Eph-System sowie zelluläre Adhäsionsmoleküle aus der Gruppe der junktionalen Adhäsionsmoleküle (JAM) oder das »platelet-endothelial cell adhesion molecule-1« (PECAM-1) sind ebenfalls in die Verstärkung der Thrombozyten-Thrombozyten-Interaktion im Rahmen der Stabilisierungsphase involviert worden (Brass et al. 2005).

## 9.2 Thrombozyteninhibition

Um unter normalen Bedingungen eine unerwünschte Thrombozytenaktivierung an der Gefäßwand zu vermeiden, besitzt das Endothel eine Vielzahl von antithrombozytären Funktionen. So werden durch die auf der luminalen Seite des Endothels exprimierte ecto-ADPase CD39 sowie durch die endothelabhängige Aktivierung von Antithrombin die beiden wichtigsten Thrombozytenaktivatoren, ADP und Thrombin, inaktiviert. Daneben bildet das intakte Endothel jedoch auch Mediatoren, die direkt inhibitorisch auf Thrombozyten wirken. Die wichtigsten endothelialen Inhibitoren der Thrombozytenaktivierung sind Stickstoffmonoxid (NO) und Prostazyklin ($PGI_2$). Während NO zu einer direkten Aktivierung der löslichen Guanylylzyklase führt, wirkt $PGI_2$ durch Aktivierung des $G_s$-gekoppelten IP-Rezeptors stimulatorisch auf die Adenylylzyklase.

Die nach Aktivierung der Guanylylzyklase bzw. Adenylylzyklase gebildeten zyklischen Nukleotide zyklisches Guanosinmonophosphat (cGMP) und zyklisches Adenosinmonophospat (cAMP) gelten als die wichtigsten zellulären Mediatoren der Thrombozyteninhibition (Schwarz et al. 2001). Die inhibitorischen Effekte zyklischer Nukleotide auf Thrombozyten werden vornehmlich durch cGMP- bzw. cAMP-abhängige Proteinkinasen sowie die Phosphorylie-

rung spezifischer Substrate vermittelt. In Thrombozyten wird vor allem die cGMP-abhängige Proteinkinase Typ I (cGK I) exprimiert, die verschiedene zelluläre Proteine durch Phosphorylierung in ihrer Funktion beeinflussen kann (Hofmann et al. 2006).

Die durch Phosphorylierung des Proteins IRAG (IP3R-assoziiertes cGMP-Kinase-Substrat) ausgelöste Hemmung der Freisetzung von $Ca^{2+}$ über den $IP_3$-Rezeptor, die Hemmung $G_q$-vermittelter Signaltransduktionsprozesse durch Phosphorylierung des Proteins RGS-2 (Regulator der G-Protein-Signaltransduktion 2) oder die Phosphorylierung und Aktivierung der Myosinphosphatase könnten im Rahmen der Thrombozyteninhibition eine wichtige Rolle spielen. Die Aktivierung der cAMP-abhängigen Proteinkinase (PKA) in Thrombozyten führt ebenfalls zu einer Hemmung der Thrombozytenaktivierung auf verschiedenen Ebenen. Sowohl eine Inhibition des $G_q/Ca^{2+}$-vermittelten Signalwegs als auch des $G_{13}$-abhängigen Rho/Rho-Kinase-Signaltransduktionsweges sind beschrieben worden (Gratacap et al. 2001).

## Literatur

Bennett JS (2005) Structure and function of the platelet integrin $alpha_{IIb}$ $beta_3$. J Clin Invest 115: 3363–3369
Bertoni A, Tadokoro S, Eto K et al. (2002) Relationships between Rap1b, affinity modulation of integrin alpha IIbbeta 3, and the actin cytoskeleton. J Biol Chem 277: 25715–25721
Brass L, Zhu L, Stalker TJ (2005) Minding the gaps to promote thrombus growth and stability. J Clin Invest 115: 3385–3392
de Bruyn KM, Zwartkruis FJ, de Rooij J et al. (2003) The small GTPase Rap1 is activated by turbulence and is involved in integrin [alpha]IIb[beta]3-mediated cell adhesion in human megakaryocytes. J Biol Chem 278: 22412–22417
Coughlin SR (2005) Protease activated receptors in hemostasis, thrombosis and vascular biology. J Thromb Haemost 3: 1800–1814
Crittenden JR, Bergmeier W, Zhang Y et al. (2004) CalDAG-GEFI integrates signaling for platelet aggregation and thrombus formation. Nat Med 10: 982–986
Denis CV, Wagner DD (2007) Platelet adhesion receptors and their ligands in mouse models of thrombosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol 27: 728–739
Du X (2007) Signaling and regulation of the platelet glycoprotein Ib-IX-V complex. Curr Opin Hematol 14: 262–269
Gachet C (2006) Regulation of platelet functions by P2 receptors. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 46: 277–300
Gratacap MP, Payrastre B, Nieswandt B et al. (2001) Differential regulation of Rho and Rac through heterotrimeric G-proteins and cyclic nucleotides. J Biol Chem 276: 47906–47913
Heemskerk JW, Bevers EM, Lindhout T (2002) Platelet activation and blood coagulation. Thromb Haemost 88: 186–193
Hirsch E, Lembo G, Montrucchio G et al. (2006) Signaling through PI3K-gamma: a common platform for leukocyte, platelet and cardiovascular stress sensing. Thromb Haemost 95: 29–35
Hofmann F, Feil R, Kleppisch T et al. (2006) Function of cGMP-dependent protein kinases as revealed by gene deletion. Physiol Rev 86: 1–23
Jackson SP, Schoenwaelder SM, Goncalves I et al. (2005) PI 3-kinase p110beta: a new target for antithrombotic therapy. Nat Med 11: 507–514
Kahn ML (2004) Platelet-collagen responses: molecular basis and therapeutic promise. Semin Thromb Hemost 30: 419–425
Murugappa S, Kunapuli SP (2006) The role of ADP receptors in platelet function. Front Biosci 11: 1977–1986
Nieswandt B, Watson SP (2003) Platelet-collagen interaction: is GPVI the central receptor? Blood 102: 449–461
Offermanns S (2006) Activation of platelet function through G protein-coupled receptors. Circ Res 99: 1293–1304
Ozaki Y, Asazuma N, Suzuki-Inoue K et al. (2005) Platelet GPIb-IX-V-dependent signaling. J Thromb Haemost 3: 1745–1751
Reed GL (2004) Platelet secretory mechanisms. Semin Thromb Hemost 30, 441–450
Ruggeri ZM (2003) Von Willebrand factor, platelets and endothelial cell interactions. J Thromb Haemost 1: 1335–1342
Schwarz UR, Walter U, Eigenthaler M (2001) Taming platelets with cyclic nucleotides. Biochem Pharmacol 62: 1153–1161
Shattil SJ, Newman PJ (2004) Integrins: dynamic scaffolds for adhesion and signaling in platelets. Blood 104: 1606–1615
Watson SP, Auger JM, McCarty OJ et al. (2005) GPVI and integrin $alpha_{IIb}$ $beta_3$ signaling in platelets. J Thromb Haemost 3: 1752–1762

# 10 Mikropartikel

*W. Lösche*

## Einleitung

Thrombozytäre Mikropartikel (»platelet derived microparticles«, PMP) sind Mikrovesikel (Durchmesser 0,1–1 µm), die sich nach Aktivierung der Thrombozyten von deren Plasmamebran abschnüren. Dementsprechend sind verschiedene pathologische Situationen, die mit einer Thrombozytenaktivierung einhergehen, mit der Bildung und erhöhten Konzentrationen von PMP im Plasma verbunden.

Ein typisches Charakteristikum der PMP ist ein hoher Gehalt von negativ geladenen Phospholipiden, insbesondere Phosphatidylserin, in der äußeren Membranschicht. In Analogie zu den aktivierten Thrombozyten exprimieren PMP zahlreiche Rezeptoren an ihrer Oberfläche. Aufgrund der negativ geladenen Phospholipide und der Expression von Tissue Factor, dem wichtigsten Initiator der Blutgerinnung, besitzen PMP ein hohes prokoagulantes Potenzial. Aufgrund der Oberflächenrezeptoren können sie auch mit verschiedenen Zellen interagieren. Diese Interaktionen führen sowohl zu einem Transfer biologisch aktiver Moleküle als auch zu einer Modulation in der Aktivität der Zielzelle (z. B. immunkompetente und inflammatorische Zellen).

PMP spielen damit nicht nur eine wichtige Rolle bei Hämostase und Thrombose, sondern sie sind auch ein wesentliches Bindeglied zwischen Hämostase und Inflammation. Zudem wird ihnen eine Bedeutung für Angiogenese und Tumormetastasierung zugesprochen.



## 10.1 Bildung

Zelluläre Mikropartikel (MP), oft auch als Mikrovesikel bezeichnet, sind vesikuläre Membranfragmente, die sich von den Plasmamembranen fast aller eukaryontischen Zellen nach deren Aktivierung abschnüren. MP entstehen als Folge eines Umbaus der Plasmamembran, der durch den Verlust der assymetrischen Verteilung der Phospholipide zwischen innerer und äußerer Schicht der Membran gekennzeichnet ist. Zelluläre MP sind in ihrer Größe sehr heterogen (Durchmesser 0,1–1 µm) und müssen von noch kleineren membranösen Partikeln zellulären Ursprungs, den Exosomen, unterschieden werden. Exosomen werden auch nach Zellaktivierung freigesetzt, sind aber endosomalen Ursprungs und wesentlich kleiner als MP (Durchmesser 50–100 nm; Keller et al. 2006).

MP verschiedenen zellulären Ursprungs finden sich im Plasma gesunder Personen. Unter verschiedenen pathologischen Situationen (▶ Kap. 10.4) kann die Anzahl der MP jedoch drastisch zunehmen. Zahlenmäßig überwiegen im Plasma thrombozytäre MP (platelet derived microparticles, PMP). MP von Erythrozyten, Granulozyten, Lymphozyten, Monozyten und Endothelzellen kommen in wesentlich geringeren Mengen vor (Berckmans et al. 2001).

Die Mechanismen, die an der Bildung von PMP beteiligt sind, wurden vorzugsweise in In-vitro-Experimenten aufgeklärt. Entscheidender Schritt in der Bildung und Freisetzung der MP sind Umbauvorgänge in der Plasmamembran. In nichtaktivierten eukaryonten Zellen sind negativ geladene Aminophospholipide (Phosphatidylserin und Phosphatidylethanolamin) vorzugsweise in der inneren, zytoplasmatischen Membranschicht, die neutralen Phospholipide Sphingomyelin und Phosphatidylcholin in der äußeren Schicht lokalisiert. Diese Asymetrie wird durch die Aktivität einer Aminophospholipid-Translokase, die entsprechende Phospholipide von außen nach innen transportiert, aufrechterhalten (Sims u. Wiedmer 2001).

Die mit Zellaktivierung verbundene Erhöhung der zytosolischen $Ca^{2+}$-Konzentration infolge einer Freisetzung aus intrazellulären Speichern und extrazellulären $Ca^{2+}$-Einstroms aktiviert einen bidirektionalen Phospholipidaustausch zwischen innerer und äußerer Membranschicht. Diese Translokation wird durch sogenante »phospholipid scramblases«, eine Familie endofazialer Plasmamembranproteine, vermittelt. Weitere Mechanismen scheinen in einem spezifischen, auswärts gerichteten Transport der Aminophospholipide und in der Hemmung der Aminophospholipid-Translokase zu liegen (Wolfs et al. 2005). Ebenfalls diskutiert wird eine Beteiligung von »multidrug-resistance proteins« und »ATP binding cassette transporters« an der Translokation der Aminophospholipide von innen nach außen (Dekkers et al. 1998; Freyssinet 2003). Neben der Akkumulation der Aminophospholipide in der äußeren Schicht der Plasmamembran sind an der Abschnürung der MP auch die Aktivierung von Kalpain und Kaspase-3 sowie die Umstrukturierung des Zytoskeletts beteiligt (Pasquet et al. 1996; Shcherbina u. Remold-O'Donnell 1999).

Neue Berichte weisen darauf hin, dass auch die Bildung von cholesterolreichen Mikrodomänen in der Plas-

mamembran, sogenannte »rafts«, eine Voraussetzung für die Bildung der MP sind. In den »rafts« konzentrieren sich verschiedene integrale Membranproteine und membranassoziierte Proteine, was die Bildung von funktionellen Komplexen ermöglicht. Damit spielen »rafts« auch bei der Thrombozytenaktivierung eine wichtige Rolle (Bodin et al. 2008; Lopez et al. 2005).

Biomechanische Prozesse können ebenfalls zur Entstehung der PMP beitragen. Bei In-vitro-Versuchen zur Adhäsion an Von-Willebrand-Faktor (vWF) unter hohen Scherkräften werden die Thrombozyten, ausgehend von den distalen Adhäsionspunkten, in Flussrichtung gestreckt, bis die Verbindung abreißt und an den Adhäsionspunkten PMP zurückbleiben (Reininger et al. 2006).

## 10.2 Struktur

Ähnlich wie andere zelluläre MP haben PMP einen Durchmesser von 0,1–1 µm, sind aus einer Lipiddoppelmembran aufgebaut und enthalten Bestandteile des thrombozytären Zytosols. Entsprechend ihres Entstehungsmechanismus exprimieren PMP einen hohen Prozentsatz negativ geladener Aminophospholipide an ihrer Oberfläche. Ihre Membran ist cholesterolreicher als die Plasmamebran der Thrombozyten, was für ihre Herkunft aus den »rafts« spricht (Biro et al. 2005).

Entsprechend ihrer Bildung exprimieren PMP auch zahlreiche Rezeptoren, die an der Oberfläche aktivierter Thrombozyten vorhanden sind, wie z. B. CD41 (GP IIb/IIIa), CD42 (GP I/V/IX), CD62P, CD36 oder Tissue Factor. Ebenfalls nachgewiesen wurden in PMP verschiedene Chemokine wie CXCL4, CXCL7 und CCL5 sowie Chemokinrezeptoren (CXCR4) (Rozmyslowicz et al. 2003; Garcia et al. 2005). Ein weiterer Bestandteil der PMP mit möglicher pathophysiologischer Bedeutung ist der Plasmatyp des Enzyms »platelet activating factor acetylhydrolase« (PAF-AH, lipoproteinassoziierte Phospholipase A2), das sowohl den plättchenaktivierenden Faktor als auch oxidativ veränderte Lipoproteine abbaut (Mitsios et al. 2006). Insgesamt sind fast die Hälfte der 578 Proteine, die bei einer Proteomanalyse (Gelelektrophorese, Massenspektroskopie) von PMP identifiziert werden konnten, zytosolischen Ursprungs (Garcia et al. 2005).

Wenn PMP in vitro erzeugt werden, dann unterscheiden sie sich in ihrer Zusammensetzung (z. B. Expression der Aminophospholipide und CD62P an der PMP-Oberfläche) in Abhängigkeit von den verwendeten Stimuli (Perez-Pujol et al. 2007). Inwieweit sich zirkulierende PMP, die sich in erhöhten Konzentrationen bei verschiedenen pathologischen Situationen nachweisen lassen (► Kap. 10.4), in ihrer Zusammensetzung unterscheiden, ist bislang noch nicht bekannt.

**! Viele sezernierte Proteine, die man früher als »lösliche« Moleküle im Plasma betrachtet hatte, sind MP-assoziiert, ein großer Teil davon ist auch an PMP gebunden.**

Aufgrund der Tatsache, dass PMP in Analogie zu aktivierten Thrombozyten verschiedene Adhäsionsmoleküle an ihrer Oberfläche exprimieren, sind sie in der Lage an Zellen (z. B. Endothelzellen, Leukozyten, Thrombozyten) und auch an adhäsive Plasma- und Matrixproteine (z. B. Kollagen, vWF, Fibrinogen) zu adhärieren. Diese adhäsiven Wechselwirkungen sind zum Teil Grundlage ihrer Funktion in pathophysiologischen Prozessen (► Kap. 10.4).

## 10.3 Nachweis

Zum quantitativen Nachweis von PMP, insbesondere von zirkulierenden PMP, werden entweder die Durchflusszytometrie oder ELISA-Techniken verwendet. Meist wird für beide Methoden Plasma eingesetzt. Aufgrund ihrer Größe und ihres spezifischen Gewichts können PMP durch Zentrifugation von Blutproben (z. B. 5 min, 5.000 x g) von den Zellen, einschließlich der Thrombozyten, abgetrennt werden. Für die Durchflusszytometrie können die PMP mit fluoreszenzmarkiertem Annexin V, das an die Aminophospholipide bindet, und einem Antikörper, der gegen ein thrombozytenspezifisches Antigen (z. B. CD42a oder CD41a) gerichtet ist, markiert und detektiert werden. Zusätzlich können noch weitere Antikörper eingesetzt werden, um die Expression anderer Rezeptoren, z. B. Tissue Factor, GP IIb/IIIa, CD62P etc., auf den PMP nachzuweisen (► Kap. 73; Diamant et al. 2004; Jy et al. 2004).

ELISA und andere Capture-Tests basieren auf der Bindung der PMP an immobilisiertes Annexin V oder an einen immobilisierten thrombozytenspezifischen Antikörper. Die Quantifizierung der PMP kann dann entweder anhand ihrer prokoagulanten Aktivität (Prothrombinaseaktivität) oder durch Bindung eines detektierenden thrombozytenspezifischen Antikörpers erfolgen (Nomura et al. 2003; Hugel et al. 2004). Inzwischen sind auch Test-Kits verschiedener Firmen für die Messung von PMP verfügbar.

## 10.4 Funktion und pathophysiologische Bedeutung

Die möglichen Interaktionen der PMP und ihre potenzielle pathophysiologische Bedeutung sind in ▪ Abb. 10.1 dargestellt.

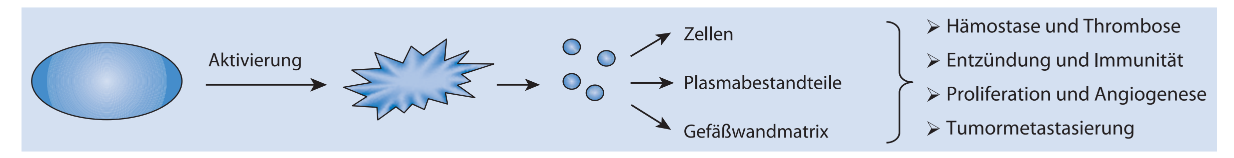



**Abb. 10.1.** PMP, ihre Interaktionspartner und ihre pathophysiologische Bedeutung

### 10.4.1 Hämostase und Thrombose

Die bereits seit längerer Zeit bekannte Funktion der PMP liegt auf der Ebene der Hämostase und Thrombose. Die Rolle der in früheren Gerinnungsschemata aufgeführten Phospholipide und auch des Plättchenfaktors 3 kann man heute im Wesentlichen den PMP und anderen PM zuschreiben. Aufgrund der Exposition der negativ geladenen Aminophospholipide sind PMP in der Lage, plasmatische Gerinnungsfaktoren zu binden und die Bildung aktiver Komplexe zu unterstützen. Dem zellbasierten Modell der Hämostase entsprechend läuft die Aktivierung der plasmatischen Gerinnungsfaktoren an Zelloberflächen ab, die reich an negativ geladenenen Phospholipiden sind. In der Zirkulation stellen v. a. aktivierte Thrombozyten und PMP diese Phospholipidoberfläche zur Verfügung (Hoffmann u. Monroe 2001).

Ausgehend von der Anzahl der FXa-Bindungstellen und der endogenen Thrombinbildung pro Oberflächeneinheit, wurden für PMP eine 50- bis 100-fach höhere prokoagulante Aktivität errechnet als für aktivierte Thrombozyten (Sinauridze et al. 2007). Für ein hohes prokoagulantes Potenzial der PMP sprechen auch zahlreiche Untersuchungen, in denen eine erhöhte Anzahl zirkulierender PMP bei Patienten mit hohem thrombotischen Risiko oder mehreren thrombotischen Ereignissen beobachtet wurde (Diamant et al. 2004; Pereira et al. 2006).

Ein weiterer Mechanismus, durch den PMP zu Hämostase und Thrombose beitragen können, liegt in der Tissue-Factor-(TF-)Expression. Ursprünglich sehr kontrovers diskutiert, wird heute die Expression von TF auf aktivierten Thrombozyten und PMP akzeptiert. Es gibt jedoch Hinweise, dass die Aktivität des TF auf PMP gesteigert wird, wenn diese mit Leukozyten interagieren (Engelmann et al. 2003). Thrombozyten und PMP spielen aber auch eine entscheidende Rolle bei der Aktivierung des sogenannten »blood born« TF, der an zirkulierende monozytäre MP gebunden ist.

»Blood born« TF erhält seine volle Aktivität durch die Interaktion mit aktivierten Thrombozyten und PMP. Voraussetzung für die verschiedenen Interaktionen zwischen MP und Zellen ist die in Abb. 10.2 dargestellte Expression von CD62P (Thrombozyten, PMP) und dem Gegenrezeptor »P-selectin glycoprotein ligand-1«/PSGL-1 (Leukozyten und leukozytäre MP; Furie u. Furie 2005; Eilertsen u.



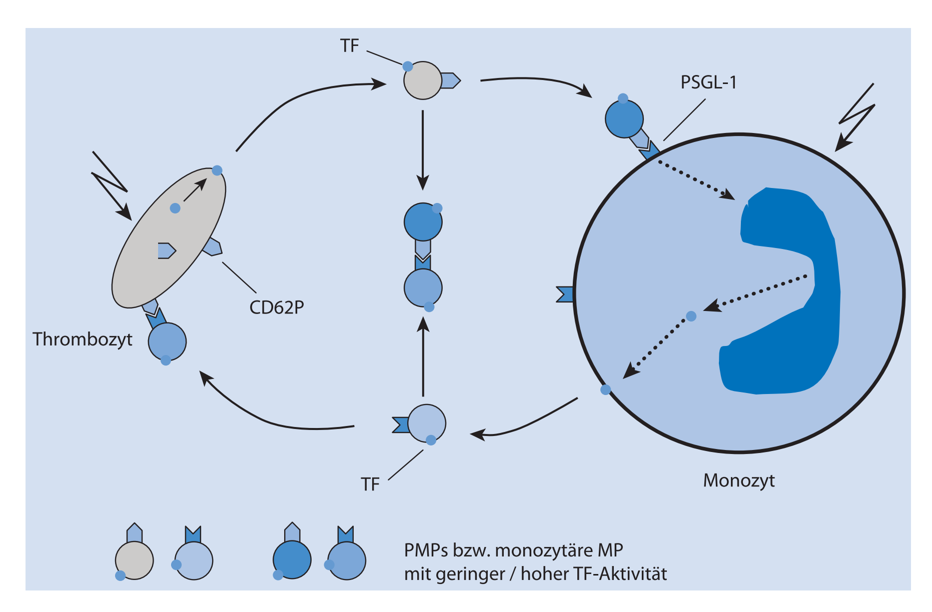



**Abb. 10.2.** TF-Expression und -aktivität: die Rolle von Thrombozyten, Monozyten und Mikropartikeln. *MP* Mikropartikel; *PMP* «platelet derived microparticles"; *PSGL-1* »P-selectin glycoprotein ligand-1«; *TF* Tissue Factor

Osterud 2005; Lösche 2005). In Mausmodellen konnte gezeigt werden, dass das Fehlen oder die Hemmung von CD62P oder PSGL-1 die Akkumulation von TF sowie die Fibrinbildung nach arterieller Gefäßwandläsion verhindert (Furie u. Furie 2005). Durch Einsatz eines oralen CD62P-Inhibitors konnte auch in einem Modell der venösen Thrombose die Thromboserate gesenkt werden (Myers et al. 2005).

### 10.4.2 Entzündung und Immunreaktionen

In den letzten Jahren haben Thrombozyten als inflammatorische und immunmodulierende Zellen zunehmendes Interesse gefunden (Weyrich et al. 2003; Lindemann et al. 2007). Zumindest verschiedene In-vitro-Untersuchungen sprechen dafür, dass auch PMP pro- und antiinflammatorische Wirkungen haben können. Dabei scheinen adhäsionsvermittelte Wechselwirkungen mit anderen Zellen sowie der Transfer bioaktiver Lipide von den PMP zu den Zielzellen eine entscheidende Rolle zu spielen. Mögliche Konsequenzen dieser Interaktionen sind in Tab. 10.1 aufgelistet. Inwieweit die aufgelisteten Interaktionen für In-vivo-Prozesse von Bedeutung sind, bedarf jedoch noch weiterer Studien.

Bedeutung für inflammatorische Prozesse kann auch in der Assoziation der PAF-Acetylhydrolase (phospholipidassoziierte Phospholipase $A_2$) mit PMP angesehen werden.

**Tab. 10.1.** Interaktionen von PMP mit inflammatorischen und immunkompetenten Zellen: Ergebnisse von In-vitro-Studien

| Thema | Studie |
|---|---|
| Stimulation der CD11b-Expression auf Granulozyten und Monozyten | Diamant et al. 2004 |
| Stimulation der »intercellular cell adhesion molecule-2-«(ICAM-1-)Expression auf Endothelzellen | Diamant et al. 2004 |
| Vermittlung von Leukozyt-Leukozyt-Aggregaten und Leukozytenadhäsion an Endothelzellen | Forlow et al. 2000 |
| Stimulation der Zyklooxygenase-2-(COX-2-)Expression und der Prostanoidsynthese in Monozyten und Endothelzellen | Barry et al. 1999 |
| Modulation der Genexpression in monozytären Zellen | Setzer et al. 2006 |
| Transfer von Zytokin- und Chemokinrezeptoren zu hämatopoetischen Zellen | Rozmyslowicz et al. 2003 |
| Transfer von thrombozytären Oberflächenantigenen auf Endothel- und hämatopoetische Zellen | Majka et al. 2007 |
| Expression von PAF-Acetylhydrolase auf PMP | Mitsios et al. 2006 |

Dieses Enzym inaktiviert einerseits den plättchenaktivierenden Faktor, einen potenten inflammatorischen Mediator, und generiert andererseits gleichzeitig Lysophosphatidylcholin, ein bioaktives Phospholipid mit chemotaktischer Aktivität. Erhöhte PAF-Acetylhydrolase-Aktivitäten in Plasma sind bei verschiedenen inflammatorischen Reaktionen beschrieben worden. Inwieweit diese erhöhten Aktivitäten unmittelbare Folge einer vermehrten PMP-Produktion sind oder überwiegend aus anderen zellulären Quellen stammen, ist jedoch noch nicht geklärt (Claus et al. 2005).

PMP und PAF-Acetylhydrolase wird auch eine Rolle in der Entstehung atherosklerotischer Gefäßveränderungen zugesprochen. In diesem Zusammenhang stehen wahrscheinlich proinflammatorische und -koagulante PMP-Aktivitäten sowie der Abbau von Phospholipden in oxidative modifizierte Lipoproteine im Vordergrund (Caslake et al. 2003; Tan u. Lip 2005).

### 10.4.3 Proliferation, Angiogenese und Tumormetastasierung

Eine mögliche Rolle von PMP für die Hämotopoese wird ebenfalls diskutiert. So konnte bei In-vitro-Untersuchungen gezeigt werden, das PMP Proliferation, Überleben, Adhäsion und Chemotaxis von hämatopoetischen Stammzellen ($CD34^+$-Zellen) stimulieren können. Jedoch sind auch hier die zugrunde liegenden Mechanismen noch nicht geklärt (Baj-Krzyworzeka et al. 2002). Die Induktion einer Proliferation glatter Muskelzellen durch PMP kann mit einer möglichen Bedeutung für die Intimahyperplasie nach Gefäßverletzung – insbesondere einer Restenose nach Angioplastie – in Zusammenhang gebracht werden (Weber et al. 2000).

In einem Mausmodell der hypoxieinduzierten Angiogenese wurden Ansammlungen von PMP im Bereich der Gefäßaussprossungen beobachtet, was auf eine Rolle der PMP für die Angiogenese hinweist (Rhee et al. 2004). Diskutiert wird eine PMP-induzierte Angiogenese auch bei Tumormetastasierung (Janowska-Wieczorek et al. 2004). Andererseits wurde auch über erhöhte PMP-Spiegel im Plasma bei Patienten mit malignen Tumoren, insbesondere gastrointestinalen Tumoren, berichtet und über mögliche Zusammenhänge mit der Tumormetastasierung spekuliert (Kim et al. 2003; Hron et al. 2007). Denkbar ist auch, dass PMP aufgrund ihrer prokoagulanten Aktivität und der Expression von Adhäsionsrezeptoren die Adhäsion und Extravasion von zirkulierenden Tumorzellen vermitteln können.

### 10.4.4 Klinische Situationen mit erhöhtem PMP-Plasmaspiegel

Aufgrund der verbesserten Nachweismethoden und der vermuteten vielfältigen pathophysiologischen Funktionen häufen sich in den letzten Jahren Berichte über erhöhte PMP-Plasmaspiegel in pathologischen Situationen. Generell kann man sagen, dass erhöhte PMP-Spiegel immer dann gefunden werden können, wenn eine In-vivo-Thrombozytenaktivierung stattfindet, d. h. bei Aktivierung der Hämostase und/oder systemischen Entzündungsreaktionen. Einige Beispiele:

**Klinische Situationen mit erhöhten PMP-Spiegeln im Plasma**
- Akutes Koronaresyndrom
- Diabetes mellitus
- Hämodialyse
- hämolytisch-urämisches Syndrom
- heparininduzierte Thrombozytopenie
- Knochenmarktransplantation
- maligne Tumoren
- periphere arterielle Verschlüsse
- Präeklampsie
- rheumatoide Arthritis
- Schlafapnoe
- Schlaganfall
- systemische Inflammation und Sepsis
- thrombotisch-thrombozytopenische Purpura
- Urämie
- Zustand nach Angioplastie/Stentimplantation



Bestimmungen der PMP-Spiegel im Plasma werden heute zum Teil schon als ein Nachweis einer In-vivo-Thrombozytenaktivierung durchgeführt.

## Literatur


Barry OP, Kazanietz MG, Pratico D et al. (1999) Arachidonic acid in platelet microparticles up-regulates cyclooxygenase-2-dependent prostaglandin formation via a protein kinase C/mitogen-activated protein kinase-dependent pathway. J Biol Chem 274: 7545–7556

Baj-Krzyworzeka M, Majka M, Pratico D (2002) Platelet derived microparticles stimulate proliferation, survival, adhesion, and chemotaxis of hematopoietic cells. Exp Hematol 30: 450–459

Berckmans RJ, Neiuwland R, Boing AN et al. (2001) Cell derived microparticles circulate in healthy humans and support low grade thrombin generation. Thromb Haemost 85: 639–646

Biro E, Akkerman JW, Hoek FJ et al. (2005) The phospholipid composition and cholesterol content of platelet derived microparticles: a comparison with platelet membrane fractions. J Thromb Haemost 3: 2754–2763

Bodin S, Viala C, Ragab A, Payrastre B (2005) A critical role of lipid rafts in the organization of a key FcgammaRIIa-mediated signaling pathway in human platelets. Thromb Haemost 89: 318–830

Caslake MJ, Packard CJ (2003) Lipoprotein associated phospholipase A2 (platelet activating factor acetylhydrolase) and cardiovascular disease. Curr Opin Lipidol 14: 347–352

Claus RA, Russwurm S, Dohrn B et al. (2005) Plasma PAF-acetylhydrolase activity in critically ill patients. Crit Care Med 33: 1416–1419

Dekkers DW, Comfurius P, Schroit AJ et al. (1998) Transbilayer movement of NBD-labeled phospholipids in red blood cell membranes: outward-directed transport by the multidrug resistance protein 1 (MRP1). Biochemistry 37: 14833–14837

Diamant M, Tushuizen ME, Sturk A et al. (2004) Cellular microparticles: new players in the field of vascular disease? Eur J Clin Invest 34: 392–401

Eilertsen KE, Osterud B (2005) The role of blood cells and their microparticles in blood coagulation. Biochem Soc Trans 33: 418–422

Engelmann B, Luther T, Müller I (2003) Intravascular tissue factor pathway – a model for rapid initiation of coagulation within the blood vessel. Thromb Haemost 89: 3–8

Forlow SB, McEver RP, Nollert MU (2000) Leukocyte-leukocyte interactions mediated by platelet microparticles under flow. Blood 95: 1317–1323

Freyssinet JM (2003) Cellular microparticles: what are they bad or good for? J Thromb Haemost 1: 1655–1662

Furie B, Furie BC (2005) Thrombus formation in vivo. J Clin Invest 115: 3355–3362

Garcia BA, Smalley DM, Cho H (2005) The platelet microparticle proteome. J Proteome Res 4: 1516–1521

Hoffman M, Monroe DM (2001) A cell-based model of hemostasis. Thromb Haemost 85: 958–965

Hron G, Kollars M, Weber H et al. (2007) Tissue factor-positive microparticles: cellular origin and association with coagulation activation in patients with colorectal cancer. Thromb Haemost 97: 119–123

Hugel B, Zobairi F, Freyssinet JM (2004) Measuring circulating microparticles. J Thromb Haemost 2: 1846–1847

Janowska-Wieczorek A, Wysoczynski M, Kijowski J et al. (2005) Microvesicles derived from activated platelets induce metastasis and angiogenesis in lung cancer. Int J Cancer 20(113): 752–760

Jy W, Horstman LL, Jimenez JJ et al. (2004) Measuring circulating cell derived microparticles. J Thromb Haemost 2: 1842–1851

Keller S, Sanderson MP, Stoeck A et al. (2006) Exosomes: from biogenesis and secretion to biological function. Immunol Lett 107: 102–108

Kim HK, Song KS, Park YS et al. (2003) Elevated levels of circulating platelet microparticles, VEGF, IL-6 and RANTES in patients with gastric cancer: possible role of a metastasis predictor. Eur J Cancer 39: 184–191

Lindemann S, Kramer B, Seizer P et al. (2007) Platelets, inflammation and atherosclerosis. J Thromb Haemost 5(Suppl1): 203–211

Lopez JA, del Conde I, Shrimpton CN (2005) Receptors, rafts, and microvesicles in thrombosis and inflammation. J Thromb Haemost 3: 1737–1744

Lösche W (2005) Platelets and tissue factor. Platelets 16: 313–319

Majka M, Kijowski J, Lesko E et al. (2007) Evidence that platelet derived microvesicles may transfer platelet-specific immunoreactive antigens to the surface of endothelial cells and CD34$^+$ hematopoietic stem/ progenitor cells – implication for the pathogenesis of immune thrombocytopenias. Folia Histochem Cytobiol 45: 27–32

Mitsios JV, Vini MP, Stengel D et al. (2006) Human platelets secrete the plasma type of platelet activating factor acetylhydrolase primarily associated with microparticles. Arterioscler Thromb Vasc Biol 26: 1907–1913

Myers DD Jr, Rectenwald JE, Bedard PW (2005) Decreased venous thrombosis with an oral inhibitor of P selectin. J Vasc Surg 42: 329–336

Nomura S, Uehata S, Saito S et al. (2003) Enzyme immunoassay detection of platelet derived microparticles and RANTES in acute coronary syndrome. Thromb Haemost 89: 506–512
Pasquet JM, Chary-Prigent J, Nurden AT (1996) Calcium influx is a determining factor of calpain activation and microparticle formation in platelets. Eur J Biochem 239: 647–654
Pereira J, Alfaro G, Goycoolea M et al. (2006) Circulating platelet-derived microparticles in systemic lupus erythematosus. Association with increased thrombin generation and procoagulant state. Thromb Haemost 95: 94–99
Perez-Pujol S, Marker PH, Key NS (2007) Platelet microparticles are heterogeneous and highly dependent on the activation mechanism: studies using a new digital flow cytometer. Cytometry A 71: 38–45
Reininger AJ, Heijnen HF, Schumann H et al. (2006) Mechanism of platelet adhesion to von Willebrand factor and microparticle formation under high shear stress. Blood 107: 3537–3545
Rhee JS, Black M, Schubert U et al. (2004) The functional role of blood platelet components in angiogenesis. Thromb Haemost 92: 394–402
Rozmyslowicz T, Majka M, Kijowski J et al. (2003) Platelet- and megakaryocyte derived microparticles transfer CXCR4 receptor to CXCR4-null cells and make them susceptible to infection by X4-HIV. AIDS 17: 33–42
Setzer F, Oberle V, Blaess M et al. (2006) Platelet derived microvesicles induce differential gene expression in monocytic cells: a DNA microarray study. Platelets 17: 571–576
Shcherbina A, Remold-O'Donnell E (1999) Role of caspase in a subset of human platelet activation responses. Blood 93: 4222–4231
Sims PJ, Wiedmer T (2001) Unraveling the mysteries of phospholipid scrambling. Thromb Haemost 86: 266–275
Tan KT, Lip GY (2005) The potential role of platelet microparticles in atherosclerosis. Thromb Haemost. 94: 488–492
Sinauridze EI, Kireev DA, Popenko NY et al (2007) Platelet microparticle membranes have 50- to 100-fold higher specific procoagulant activity than activated platelets. Thromb Haemost 97: 425–434
Weber A, Koppen HO, Schrör K (2000) Platelet derived microparticles stimulate coronary artery smooth muscle cell mitogenesis by a PDGF-independent mechanism. Thromb Res 98: 461–466
Weyrich AS, Lindemann S, Zimmerman GA (2003) The evolving role of platelets in inflammation. J Thromb Haemost 1: 1897–1905
Wolfs JL, Comfurius P, Rasmussen JT et al. (2005) Activated scramblase and inhibited aminophospholipid translocase cause phosphatidylserine exposure in a distinct platelet fraction. Cell Mol Life Sci 62: 1514–1525

# 11 Endothelzellen

*J. Steffel, Th. F. Lüscher*

## Einleitung

Endothelzellen sind entscheidend an der Regulation der Gerinnung sowie an der Aufrechterhaltung des Gleichgewichtes zwischen pro- und antithrombotischen Faktoren beteiligt. Im physiologischen Zustand stellt das Endothel eine nichtthrombogene Oberfläche dar, welche die Aktivierung der Plättchen und der Gerinnungskaskade verhindert und den Gefäßtonus reguliert. In diesen Prozessen spielen für die Hemmung bzw. Aktivierung der Thrombozyten sowohl die Balance zwischen Prostazyklin und seinem endogenen Gegenspieler Thromboxan $A_2$ als auch die zwischen Stickstoffmonoxid (NO) und den biologisch hochaktiven Sauerstoffradikalen eine wichtige Rolle. In der Entwicklung der Atherosklerose gerät diese Balance bereits auf der ersten Stufe der endothelialen Dysfunktion aus dem Gleichgewicht, und atherogene und prokoagulatorische Faktoren gewinnen die Überhand.

Bei letzteren scheint insbesondere Tissue Factor, dem Initiator der plasmatischen Gerinnungskaskade, eine wichtige Rolle zuzukommen. Seine Expression wird im Rahmen der inflammatorischen Umgebung der sich entwickelnden atherosklerotischen Plaque in zahlreichen Zelltypen (so auch in Endothelzellen) induziert. Darüber hinaus produzieren Endothelzellen »tissue-type plasminogen activator« (t-PA), welches Fibrin abbaut, sowie seinen Gegenspieler »plasminogen activator inhibitor-1« (PAI-1). Die Regulation und Aufrechterhaltung der Balance zwischen pro- und antithrombogenen und -atherogenen Faktoren und somit der vaskulären Homöostase ist daher eine Hauptaufgabe der Endothelzellen.



## 11.1 Einleitung

Ungeachtet der Fortschritte in der Diagnostik und Therapie kardiovaskulärer Erkrankungen über die letzten Jahrzehnte nehmen diese Erkrankungen in der westlichen Hemisphäre weiterhin eine führende Stellung bezüglich Morbidität und Mortalität ein. Auf dem Boden atherosklerotischer Veränderungen gehen speziell thrombotische Komplikationen wie Myokardinfarkt und Schlaganfall mit einer hohen Mortalität einher. Dem Endothel kommt bei der Regulation der normalen Gefäßfunktion, bei der Pathogenese der Atherosklerose sowie bei der Aktivierung der Gerinnungskaskade und der Thrombozyten eine entscheidende Rolle zu.

Bestehend aus einem kontinuierlichen Monolayer von dicht aneinander grenzenden flachen Zellen, stellt das Endothel im physiologischen Zustand eine geschlossene, nichtthrombogene Oberfläche dar, die zum einen die unkontrollierte Aktivierung von Plättchen und der Gerinnungskaskade verhindert und zum anderen den Gefäßtonus reguliert. Die Entwicklung der Atherosklerose, welche dem Großteil der kardiovaskulären Erkrankungen zugrunde liegt, beginnt mit dem Stadium der endothelialen Dysfunktion. Im Gegensatz zum gesunden Zustand begünstigt das dysfunktionale Endothel die Vasokonstriktion und die lokale Aktivierung der Gerinnung. Mit fortschreitender Ansammlung lipidbeladener Makrophagen und mit Progression der atherosklerotischen Plaque können endotheliale Erosionen und schließlich eine Plaqueruptur auftreten, wobei dessen hochgradig prokoagulatorischer Inhalt freigesetzt wird und zu oben genannten Komplikationen führt.

## 11.2 Das Endothel als Regelelement der vaskulären Homöostase

Das unverletzte, normale Endothel synthetisiert und sezerniert eine Vielzahl vasoaktiver Substanzen, die unter anderem an der Regulierung von Gerinnung und Inflammation sowie an der Interaktion von Endothel, zirkulierenden Zellen und glatten Gefäßmuskelzellen beteiligt sind (Abb. 11.1; [1]). Während des Prozesses der Atherogenese zeigen sich funktionelle Schäden der Gefäßwand bereits lange bevor sichtbare strukturelle Gefäßschäden (Plaquebildung u. a.) nachweisbar sind.

In der Aufrechterhaltung der vaskulären Homöostase spielt Stickstoffmonoxid (»nitric oxide«, NO) eine entscheidende Rolle. NO ist ein freies Radikal mit einer In-vivo-Halbwertszeit von wenigen Sekunden, welches in Endothelzellen aus L-Arginin synthetisiert wird [2, 3]. Diese Reaktion wird durch das Enzym der endothelialen NO-Synthase (eNOS) in Anwesenheit des Kofaktors Tetrahydrobiopterin katalysiert [4]. Auf die Gefäßwand treffende Scherkräfte sowie Substanzen wie Acetylcholin, Bradykinin, Adenosindiphosphat (ADP), Serotonin, Thrombin fördern die Freisetzung von NO aus den Endothelzellen. Aufgrund seiner Struktur kann NO biologische

Barrieren und Membranen leicht passieren. Es gelangt somit nicht nur in das Gefäßlumen, sondern auch in tiefer gelegene Gefäßschichten und zu den glatten Gefäßmuskelzellen.

Die biologischen Effekte von NO sind vielfältig. Auf die glatten Gefäßmuskelzellen wirkt es vor allem vasodilatatorisch, antiproliferativ und antimigratorisch und inhibiert somit entscheidende atherogene Prozesse. Am Endothel reduziert NO die Plättchenadhäsion und -aggregation und verhindert die endotheliale Adhäsion und Migration von Leukozyten. Vasodilatation und Hemmung der Plättchenfunktion wird durch zyklisches Guanosinmonophosphat (cGMP) vermittelt, während die Hemmung der Proliferation und Migration glatter Gefäßmuskelzellen auf die Interaktion mit den Zellzyklus regulierenden Proteinen zurückzuführen ist [5–7]. Im gesunden Zustand ist der Effekt von NO somit in erster Linie »vasoprotektiv«, d. h. antiatherogen und antithrombogen.

Im Endothel von Patienten mit atherosklerotischen Gefäßveränderungen sind die Expression der eNOS und infolgedessen die Freisetzung von NO deutlich reduziert [8, 9]. Im Gegenzug wird die endotheliale Dysfunktion und letztlich die atherosklerotische Plaqueformation durch Bildung von reaktiven Sauerstoffmolekülen (»reactive oxygen species«, ROS) weiter verstärkt. Das Superoxidanion ($O_2^-$) agiert zum einen als direkter Vasokonstriktor, zum anderen jedoch – und wahrscheinlich noch wichtiger – reduziert es die Bioverfügbarkeit von NO, indem es mit diesem zu dem biologisch hochaktiven Peroxynitrit ($ONOO^-$) bildet [10, 11].

Die klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren (Diabetes mellitus, Hypercholesterinämie, Hypertonus, Nikotinabusus) führen allesamt zu einer Zunahme des oxidativen Stresses [12]. Die Verschiebung der Balance zwischen dem vasoprotektiven NO und den ROS wirkt sich jedoch nicht nur zugunsten der Entstehung und Weiterentwicklung der Atherosklerose, sondern auch auf die Aktivierung des Gerinnungssystems aus. Dies gilt insbesondere, da NO die Bildung des gefäßprotektiven (und antikoagulatorisch wirkenden) Prostazyklins ($PGI_2$) fördert, während dieses von $ONOO^-$ durch Bildung von Nitrotyrosinresiduen effektiv gehemmt wird.

Während also im gesunden Gefäß NO die Aktivierung der Gerinnung und als Folge dessen die Thrombusbildung effektiv hemmt, hat eine Abnahme der NO-Bioverfügbarkeit (und parallele Zunahme der ROS) im atherosklerotisch erkrankten Gefäß just den entgegengesetzten Effekt. Das Endothel ist somit zu jedem Zeitpunkt – sowohl im gesunden als auch im pathologisch veränderten Zustand – entscheidend an der vaskulären Homöostase beteiligt.

## 11.3 Interaktion von Endothel und Thrombozyten

Thrombozyten sind akaryote Strukturen, welche in der Peripherie des Blutstroms in enger Nachbarschaft zum Endothel wandern (▶ Kap. 2). Sie können durch eine Vielzahl von Substanzen (z. B. ADP, Arachidonsäure, Thrombin) aktiviert werden, was zu einer Formveränderung (Pseudopodienbildung) und schließlich zur Aggregation führt; Kontakte mit endothelialen Oberflächenmolekülen sowie mit subendothelialen Gefäßwandschichten (wenn diese dem Blutstrom exponiert werden, z. B. nach Gefäßverletzung) führen darüber hinaus zur Thrombozytenadhäsion an der Gefäßwand.

Wie oben beschrieben, verhindern im physiologischen Zustand des gesunden Endothels zum einen die ununterbrochene Endothelzellschicht, zum anderen im Endothel synthetisiertes NO und $PGI_2$ die Thrombozytenaktivierung; hierbei potenzieren sich die antithrombotischen und antiaggregatorischen Effekte von NO (via cGMP) und $PGI_2$ (via zyklisches Adenosinmonophosphat, cAMP) gegenseitig. Im gesunden Endothel besteht darüber hinaus eine wichtige Feedback-Schleife zwischen Plättchen und Endothel darin, dass zahlreiche von Thrombozyten sezernierte Substanzen die endotheliale NO-Freisetzung fördern und somit eine unkontrollierte Plättchenaktivierung verhindern (◘ Abb. 11.1). Von besonderer Bedeutung sind hierbei Thrombin, welches durch Spaltung verschiedener protease-aktivierter Rezeptoren (PAR) wirkt, und ADP, welches den $P_2$-purinergen Rezeptor aktiviert.

Im Unterschied dazu führen am erkrankten oder beschädigten Gefäß aus den Thrombozyten sezernierte Mediatoren wie Thromboxan ($TxA_2$) und Serotonin zur Aktivierung der Gerinnung sowie zur Vasokonstriktion (durch Aktivierung von glatten Gefäßmuskelzellen). Die evolutionsbiologische Wichtigkeit dieses Mechanismus liegt in erster Linie darin, nach einer Gefäßverletzung durch rasche Hämostase und Vasokonstriktion einen Gefäßverschluss zu erwirken und Blutverluste zu verhindern. Jedoch wird eine gesteigerte Thrombozytenaktivierung nicht nur im verletzten, sondern auch im atherosklerotisch veränderten Gefäß beobachtet. Für den biologischen »Nettoeffekt« ist hierbei das Gleichgewicht von $PGI_2$ und seinem direkten »Gegenspieler« $TxA_2$ entscheidend (◘ Abb. 11.2). Im Unterschied zu $TxA_2$ wirkt das vom Endothel gebildete und kontinuierlich in den Blutstrom sezernierte $PGI_2$ vasodilatatorisch und antiaggregatorisch [13–15]. Eine Reduktion der $PGI_2$-Synthese oder -Sekretion (wie sie z. B. im Rahmen der endothelialen Dysfunktion vorkommt) resultiert daher in einer Verschiebung der Balance zugunsten von $TxA_2$ und somit in einer erhöhten Thrombogenität.

$TxA_2$ und $PGI_2$ gehören zu den Prostaglandinen, deren Bildung vornehmlich durch 2 Isoenzyme katalysiert wird:

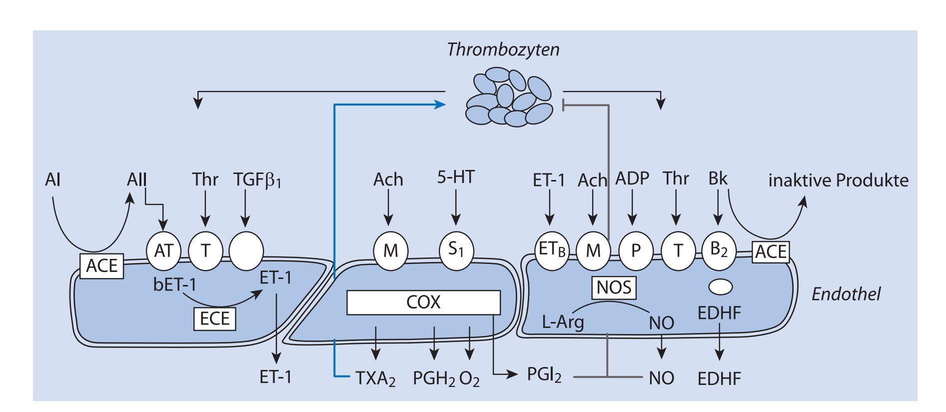



**Abb. 11.1.** Das gesunde Endothel synthetisiert und sezerniert eine Vielzahl vasoaktiver Substanzen. NO und Prostazyklin wirken vasodilatativ, antiproliferativ und antimigratorisch auf glatte Gefäßmuskelzellen und verhindern die Thrombozytenaggregation und Leukozytenadhäsion (*grauer Pfeil*). Im Gegensatz dazu wirkt Thromboxan vasokonstriktorisch und fördert die Plättchenadhäsion und -aggregation (*blauer Pfeil*). *ACE* »Angiotensin converting enzyme«; *Ach* Acetylcholin; *AI* Angiotensin I; *AII* Angiotensin II; *AT1* Angiotensin-1-Rezeptor; *bET-1* Big-Endothelin; *$B_2$* Bradykininrezeptor; *Bk* Bradykinin; *COX* Zyklooxygenase; *ECE* »Endothelin converting enzyme«; *EDHF* »endothelium derived hyperpolarizing factor«; *$ET_B$* Endothelin-B-Rezeptoren; *ET-1* Endothelin-1; *L-Arg* L-Arginin; *M* muskarinerger Ach-Rezeptor; *NO* Stickstoffmonoxid; *NOS* NO-Synthase; *P* $P_2$-Rezeptor; *$PGH_2$* Prostaglandin H2; *$PGI_2$* Prostazyklin; *S* Serotoninrezeptor; *T* Thromboxanrezeptor; *Thr* Thrombin; *TGF-$\beta_1$* »transforming growth factor β1«; *$TxA_2$* Thromboxan; *5-HT* 5-Hydroxytryptamin (Serotonin). (Aus Steffel u. Lüscher [23])



Zyklooxygenase-1 (COX-1) und COX-2. Im Gegensatz zu COX-2 wird COX-1 in den meisten Zelltypen konstitutiv exprimiert; erstere kann jedoch in den meisten Zelltypen durch verschiedene Stimuli induziert werden [15, 16]. So sind auch Endothelzellen in der Lage, die Expression von COX-2 (welche zur Bildung von $PGI_2$ beiträgt) zu steigern, während in Thrombozyten COX-2 (höchstwahrscheinlich) nicht in relevantem Maße vorhanden und in diesen akaryoten Strukturen auch nicht induzierbar ist – weswegen die $TxA_2$-Bildung lediglich über COX-1 erfolgt.

Dies hat unter anderem wichtige therapeutische Konsequenzen. Acetylsalicylsäure (Aspirin) inhibiert als irreversibler, nichtselektiver COX-Hemmer sowohl die endotheliale Synthese von $PGI_2$ als auch die Bildung von $TxA_2$ in den Thrombozyten. Seine antiaggregatorische Wirkung beruht in erster Linie darauf, dass Endothelzellen COX (und vor allem COX-2) resynthetisieren können, während Thrombozyten zur De-novo-Proteinsynthese nicht fähig sind. Ihre COX-1 ist somit durch Acetylsalicylsäure »auf Lebenszeit« blockiert. Als Nettoeffekt resultiert daher eine Verschiebung der Balance zugunsten des antiaggregatorischen $PGI_2$.

Anders scheint hingegen die Situation bei selektiven COX-2-Hemmern (z. B. Celecoxib, Rofecoxib) zu sein: Aufgrund der präferenziellen Hemmung der endothelialen $PGI_2$-Bildung wird bei diesen Substanzen vermutet, dass netto eine Verschiebung der Balance zugunsten des prothrombotischen $TxA_2$ resultiert. In der Tat wurde in Studien zur Malignomprävention als Nebenbefund unter Rofecoxib (Vioxx®) ein vermehrtes Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse registriert, was 2004 zum Rückzug des Präparates führte. In der Zwischenzeit mehren sich hingegen Hinweise, dass der Effekt von COX-2-Hemmern nicht ausschließlich auf die Verschiebung der Dysbalance zwischen $TxA_2$ und $PGI_2$ reduziert werden kann [15, 17, 18]. Ob selektive COX-2-Hemmer tatsächlich mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko vergesellschaftet sind, wird gegenwärtig in randomisierten und auf diesen Endpunkt ausgelegten Studien untersucht.

## 11.4 Endothelialer Tissue Factor: Induktionund Funktion

Tissue Factor (TF) ist ein Schlüsselenzym in der Initiierung der plasmatischen Gerinnungskaskade. Durch Kontakt von TF mit im Blut zirkulierendem Faktor VIIa entsteht der TF-FVIIa-Komplex , welcher Faktor IX zu IXa konvertiert; letzterer aktiviert Faktor X zu Xa (alternativ kann die Konversion von FX zu FXa auch direkt durch den TF-FVIIa-Komplex erfolgen). FXa katalysiert im Komplex mit Faktor Va, Phospholipiden und Kalzium die Umwandlung von Prothrombin zu Thrombin, welches schließlich Fibrinogen zu Fibrin aktiviert und ultimativ die Bildung eines Thrombus bewirkt (Abb. 11.2; [19]).

In subendothelialen Gefäßschichten wie den glatten Gefäßmuskelzellen der Gefäßmedia oder den Fibroblasten der Adventitia wird TF konstitutiv exprimiert [19], wodurch im Falle einer Gefäßverletzung die Blutgerinnung rasch initiiert und das verletzte Gefäß verschlossen werden kann. Im Gegensatz dazu exprimieren mit dem zirkulierenden Blut in Kontakt kommende Zellen (wie Endothelzellen und Monozyten) praktisch keinen TF, sodass unter normalen, physiologischen Bedingungen praktisch kein

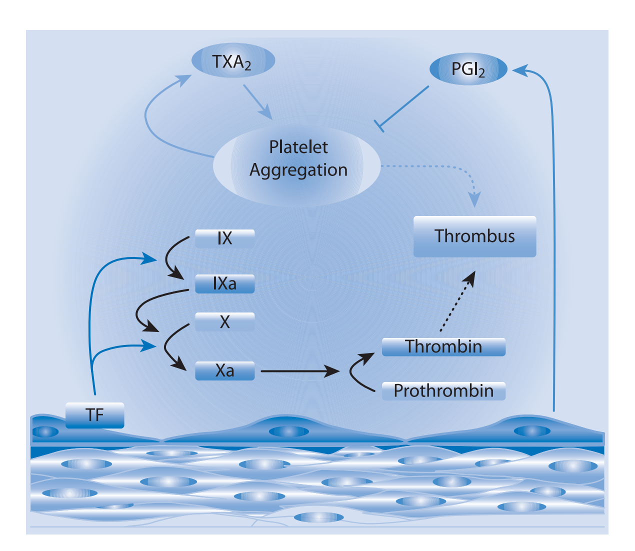



**Abb. 11.2.** Das Gleichgewicht zwischen dem antithrombotischen Prostazyklin ($PGI_2$) und seinem endogenen prothrombotischen »Gegenspieler« Thromboxan ($TxA_2$) ist von großer Bedeutung in der Regulation der Gerinnung. Mediatoren, welche während der Plättchenaktivierung und -aggregation freigesetzt werden (z. B. Serotonin, Histamin, Thrombin), induzieren darüber hinaus die Expression von endothelialem Tissue Factor (TF) und aktivieren somit zusätzlich die plasmatische Gerinnung. Andere Mediatoren sind Kofaktoren in der Konversion der Faktoren der Gerinnungskaskade. Es resultiert die Bildung eines Thrombus aufgrund der Thrombozytenaktivierung und der Initiierung der plasmatischen Gerinnungskaskade. *IX(a)* Faktor IX(a); *X(a)* Faktor X(a). (Aus Steffel u. Lüscher [23])

Kontakt von TF mit fließendem Blut besteht. Unter bestimmten Bedingungen – und speziell im Rahmen der inflammatorischen Mikroumgebung der atherosklerotischen Plaque – kann TF jedoch auch in Endothelzellen induziert werden, welches eine Zunahme der lokalen Thrombogenität zur Folge hat (Abb. 11.3).

Zahlreiche Zytokine (z. B. Interleukin-1β, CD40-Ligand, Tumornekrosefaktor-α), biogene Amine (z. B. Histamin, Serotonin) sowie weitere Mediatoren (z. B. »oxidized low density lipoprotein«/LDL, vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor/VEGF oder Thrombin) induzieren die TF-Synthese in Endothelzellen (Abb. 11.4; [19]). Trotz der unterschiedlichen Struktur und Wirkweise dieser Substanzen sind die in die TF-Induktion involvierten Signaltransduktionswege ähnlich; so sind die mitogenaktivierten Proteasen (MAP) Kinase p38, p44/42 (ERK) und c-jun N-terminale Kinase (JNK) sowie die Phosphatidylinositol-3-(PI-3-)Kinase und Proteinkinase C an der TF-Induktion durch zahlreiche der genannten Substanzen entscheidend beteiligt. Die gemeinsame Endstrecke der meisten dieser Signaltransduktionsmechanismen ist die Aktivierung von Transkriptionsfaktoren (wie »activator protein-1« [AP-1], »nuclear factor kappa B« [NF-κB] und »epidermal growth response-1« [EGR-1]), was ultimativ zur Hochregulation der TF-mRNA (Tissue-Factor-Messenger-RNA) führt.

Unter den genannten Signaltransduktionsmolekülen nimmt die PI-3-Kinase eine Sonderstellung ein, da sie im Unterschied zu den anderen genannten Molekülen die endotheliale TF-Induktion negativ reguliert, d. h. eine Aktivierung der PI-3-Kinase führt zur Reduktion der TF-Expression. Der Mechanismus der durch PI-3-Kinase-Hemmung gesteigerten TF-Expression in Endothelzellen ist bisher nicht endgültig geklärt, es scheint jedoch zumindestens teilweise (und abhängig von dem jeweiligen induzierenden Stimulus) eine Regulation auf posttranskriptionaler Ebene stattzufinden [19, 21].

Biologisch aktiver TF ist an der Zelloberfläche lokalisiert. Interessanterweise korreliert das Ausmaß der TF-Proteininduktion in Endothelzellen nicht immer mit der Induktion der letztlich biologisch entscheidenden TF-Oberflächenaktivität. Mehrere Mechanismen werden hierfür verantwortlich gemacht. Zum einen ist TF in mehreren subzellulären Kompartimenten verteilt; so besteht neben dem oberflächenaktiven TF ein großer intrazellulärer TF-Pool, welcher nach Verletzung des Endothels rasch in die Umgebung freigesetzt werden kann und die Gerinnungskaskade aktiviert. Darüber hinaus synthetisieren und sezernieren Endothelzellen mit Tissue Factor Pathway Inhibitor (TFPI) den endogenen Gegenspieler von TF, welcher die Oberflächenaktivität von TF reduziert. Schließlich ist eine funktionell inaktive Form von TF – der sogenannte »verschlüsselte« (encrypted) oder »latente« TF – an der endothelialen Zelloberfläche beschrieben worden. Durch diese Form kann eine rasche Steigerung der TF-Oberflächenaktivität als Reaktion auf einen bestimmten Stimulus erreicht werden, ohne dass hierfür eine De-novo-Proteinsynthese vonnöten ist. Der prothrombotische »Nettoeffekt« einer bestimmten Substanz im Hinblick auf TF ist somit abhängig vom Ausmaß der TF-Induktion, der subzellulären Verteilung, der konkomittanten Induktion und Sekretion von TFPI sowie der strukturellen Modifikationen des TF-Moleküls.

Darüber hinaus synthetisieren Endothelzellen eine alternativ gesplicte Variante von TF, in welcher die transmembranöse Komponente fehlt und die daher in das Blut sezerniert wird. Ebenso findet sich im Plasma zirkulierender TF an Mikropartikel gebunden, welche unter anderem von aktivierten Endothelzellen freigesetzt werden. Beide Varianten werden an anderer Stelle ausführlich besprochen (► Kap. 15).

In dem inflammatorischen Kontext der atherosklerotischen Plaque wird TF von mehreren Zelltypen exprimiert. Während in der Initialphase der Atherogenese die TF-Expression hauptsächlich in Monozyten beobachtet wird, nehmen in späteren Stadien auch Endothelzellen und glatte Gefäßmuskelzellen hieran teil (Abb. 11.3). Darü-

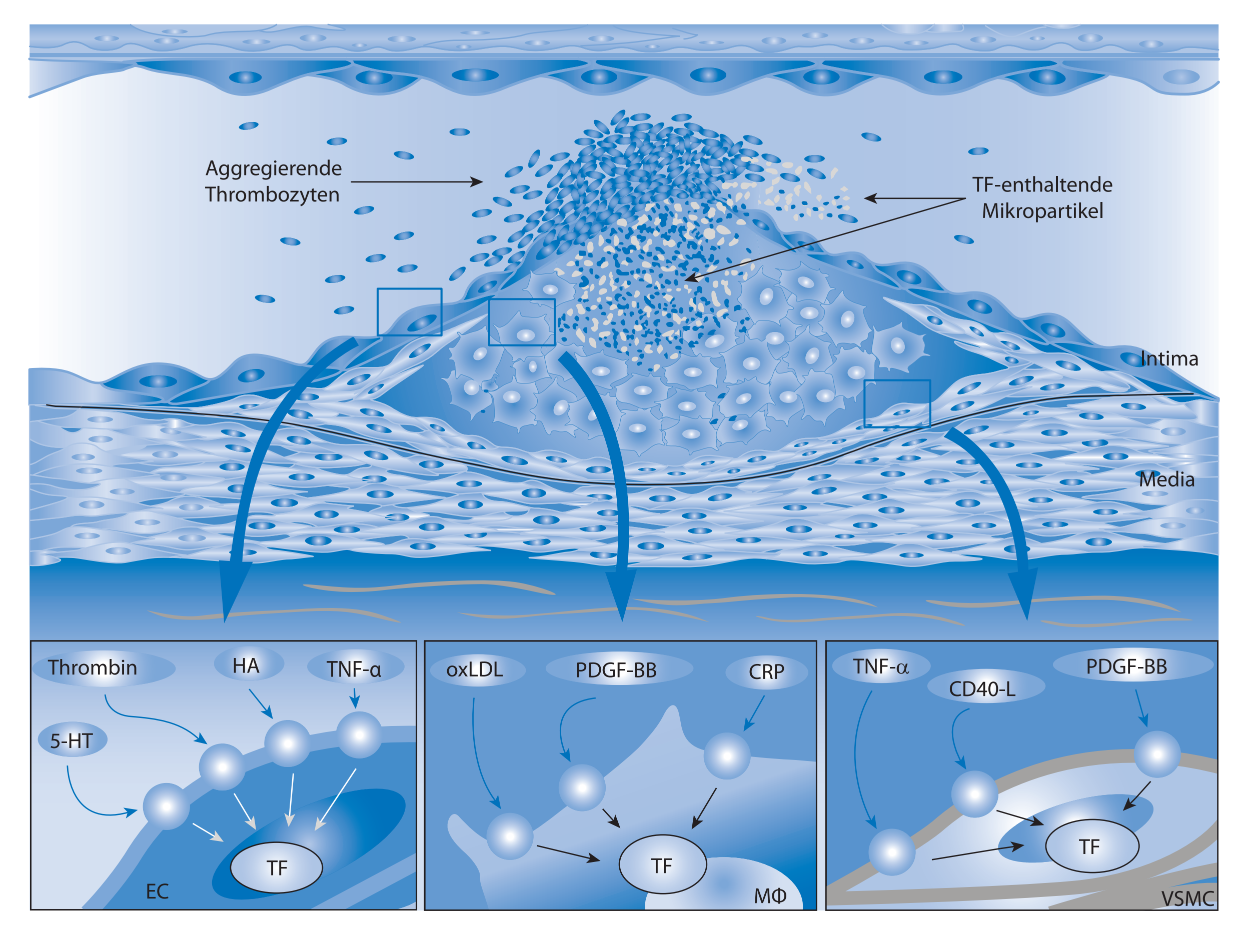



**Abb. 11.3.** Tissue Factor und die atherosklerotische Plaque. In dem inflammatorischen Kontext der atherosklerotischen Plaque kann Tissue Factor (*TF*) in Endothelzellen, Makrophagen/Schaumzellen, glatten Gefäßmuskelzellen und im nekrotischen Plaquekern nachgewiesen werden. Die Induktion von TF wird hier beispielhaft an Endothelzellen (*EC*), Makrophagen (*MΦ*) und glatten Gefäßmuskelzellen (*VSMC*) dargestellt. Die Plaqueruptur führt zur unmittelbaren Freisetzung ihres hochgradig prokoagulatorischen Inhalts, was zu einer massiven Aktivierung der Gerinnung mit Thrombusbildung führt. *5-HT* 5-Hydroxytryptamin (Serotonin); *HA* Histamin; *TNF-α* Tumornekrosefaktor-α; *oxLDL* »oxidized low density lipoprotein«; *PDGF-BB* »platelet derived growth factor-BB«; *CRP* C-reaktives Protein, *CD40-L* CD40-Ligand (aus Steffel et al. [19])

ber hinaus kann TF – in erster Linie gebunden an Mikropartikel – im nekrotischen Kern der Plaque nachgewiesen werden. Die Ruptur einer solchen Plaque führt zur unmittelbaren Freisetzung ihres hochgradig prokoagulatorischen Inhalts, was eine massive Aktivierung der Gerinnung mit Thrombusbildung und in der Regel ein entsprechendes klinisches Korrelat (z. B. Myokardinfarkt oder Schlaganfall) zur Folge hat. Umgekehrt ist für die Thrombusbildung eine Plaqueruptur keine »conditio sine qua non«, da beispielsweise bei einer nicht kleinen Anzahl von Patienten mit akutem Koronarsyndrom eine Thrombusbildung lediglich auf dem Boden einer oberflächlichen Plaqueerosion beobachtet wird [22], was gleichwohl zur Exposition von TF und nachfolgender Aktivierung der Gerinnung führen kann.

Die Expression und Verteilung von TF ist somit sowohl im physiologischen wie im pathologisch veränderten Gefäß von großer Bedeutung: Während im Gesunden die subendotheliale TF-Lokalisation einerseits eine unkontrollierte Gerinnungsaktivierung verhindert, andererseits aber eine rasche Gerinnung nach Gefäßverletzung garantiert, führt die pathologisch gesteigerte Expression im erkrankten Gefäß zu einer erhöhten Thrombogenität und zu den oben beschriebenen thrombotischen Komplikationen.

## 11.5 Gewebeplasminogenaktivator und Plasminogenaktivatorinhibitor-1

Die Wirkung von TF und der darauffolgenden Bildung von Fibrin wird durch den ebenfalls im Endothel gebildeten Gewebeplasminogenaktivator (»tissue-type plasminogen activator«, t-PA) und Plasminogenaktivatorinhibitor-1 (»plasminogen activator inhibitor-1« = PAI-1) reguliert. Während

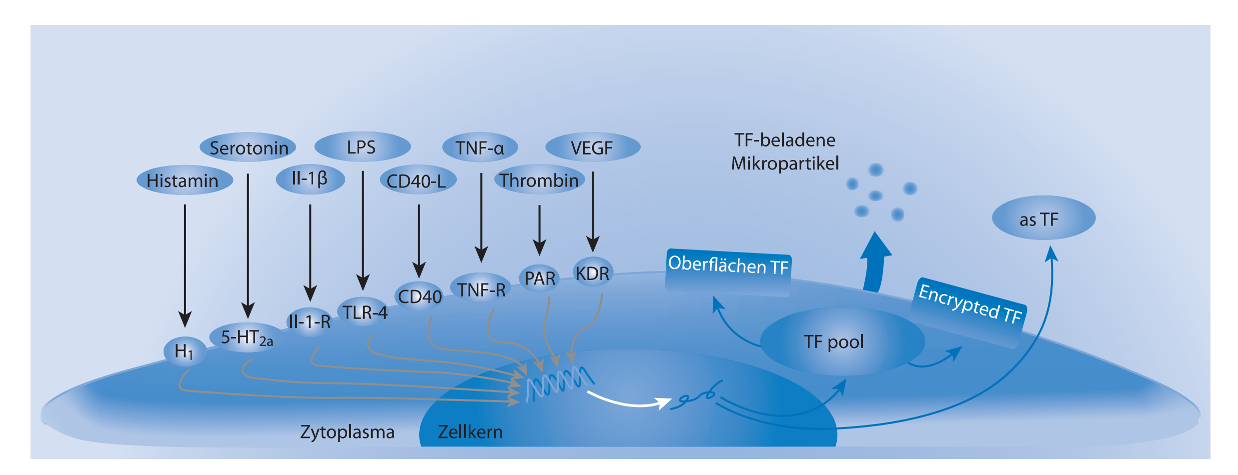



**Abb. 11.4.** Induktion von endothelialem Tissue Factor. Eine Vielzahl von Mediatoren induziert Tissue Faktor (TF) in Endothelzellen (Abbildung exemplarisch). Die Induktion erfolgt zumeist auf transkriptionaler Ebene. TF ist subzellulär in verschiedenen Kompartimenten verteilt, und zwar zytoplasmatisch, an der Oberfläche und verschlüsselt (»encrypted«). Darüber hinaus können TF enthaltende Mikropartikel von Endothelzellen sezerniert werden. Alternatives Splicing führt zur Sekretion einer weiteren löslichen TF-Form. *5-HT$_{2a}$* 5-Hydroxytryptamin$_{2a}$-Rezeptor; *asTF* alternativ gesplicter TF; *CD40-L* CD40-Ligand; *$H_1$* Histamin-$H_1$-Rezeptor; *Il-1β* Interleukin-1β; *Il-1-R* Interleukin-1-Rezeptor; *KDR* VEGF-Rezeptor-2; *LPS* Lipopolysaccharid; *PAR* proteaseaktivierter Rezeptor; *TLR-4* »Toll-like receptor 4«; *TNF-α* Tumornekrosefaktor-α; *TNF-R* TNF-α-Rezeptor; *VEGF* »vascular endothelial growth factor« (Aus Steffel et al. [19])

t-PA enzymatisch Fibrin in Spaltprodukte inaktiviert und damit fibrinolytisch und im Endeffekt antithrombotisch wirkt, ist PAI-1 der endogene Gegenspieler von t-PA und ein dokumentierter Risikofaktor für kardiovaskuläre Ereignisse. Die Fibrinonlyse und ihre Regulation werden an anderer Stelle ausführlich besprochen (▶ Kap. 27–29).

## Dank

Originalarbeiten der Autoren wurden unterstützt vom Schweizerischen Nationalfonds (Grant No. 3100-068118.02/1, TFL) und der Europäischen Union (European Vascular Genomics Network; Grant No. G5RD-CT-2001-00532, TFL), der schweizerischen Herzstiftung, der Wolfermann-Nägeli Stiftung, der Mercator Foundation und dem Zentrum für Integrative Humanphysiologie der Universität Zürich.

## Literatur

[1] Luscher TF, Tanner FC, Tschudi MR et al. (1993) Endothelial dysfunction in coronary artery disease. Ann rev med 44: 395–418
[2] Furchgott RF, Zawadzki JV (1980) The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. Nature 288: 373–376
[3] Stamler JS, Singel DJ, Loscalzo J (1992) Biochemistry of nitric oxide and its redox activated forms. Science 258: 1898–1902
[4] Palmer RM, Ashton DS, Moncada S (1988) Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. Nature 333: 664–666
[5] Largiader T, Eto M, Payeli SK et al. (2008) Endothelial nitric oxide synthase gene transfer inhibits human smooth muscle cell migration via inhibition of Rho A. J Cardiovasc Pharmacol 52: 369–374
[6] Tanner FC, Meier P, Greutert H et al. (2000) Nitric oxide modulates expression of cell cycle regulatory proteins: a cytostatic strategy for inhibition of human vascular smooth muscle cell proliferation. Circulation 101: 1982–1989
[7] Luscher TF, Barton M (1997) Biology of the endothelium. Clin Cardiol 20(II): 3–10
[8] Oemar BS, Tschudi MR, Godoy N et al. (1998) Reduced endothelial nitric oxide synthase expression and production in human atherosclerosis. Circulation 97: 2494–2498
[9] Ghiadoni L, Taddei S, Virdis A et al. (1998) Endothelial function and common carotid artery wall thickening in patients with essential hypertension. Hypertension 32: 25–32
[10] Rubanyi GM, Vanhoutte PM (1986) Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium derived relaxing factor. Am J Physiol 250: H822–H827
[11] Katusic ZS, Vanhoutte PM (1989) Superoxide anion is an endothelium derived contracting factor. Am J Physiol 257: H33–37
[12] Brunner H, Cockcroft JR, Deanfield J et al. (2005) Endothelial function and dysfunction. Part II: Association with cardiovascular risk factors and diseases. A statement by the Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. J Hypertens 23: 233–246
[13] Whittaker N, Bunting S, Salmon J et al.(1976) The chemical structure of prostaglandin X (prostacyclin). Prostaglandins 12: 915–928
[14] Cheng Y, Austin SC, Rocca B et al. (2002) Role of prostacyclin in the cardiovascular response to thromboxane A2. Science 296: 539–541
[15] Steffel J, Luscher TF, Ruschitzka F et al. (2006) Cyclooxygenase-2 inhibition and coagulation. J Cardiovasc Pharmacol 47(Suppl1): S15–S20
[16] Jones DA, Carlton DP, McIntyre TM et al. (1993) Molecular cloning of human prostaglandin endoperoxide synthase type II and demonstration of expression in response to cytokines. J Biol Chem 268: 9049–9054
[17] Steffel J, Hermann M, Greutert H et al. (2005) Celecoxib decreases endothelial tissue factor expression through inhibition of c-Jun terminal $NH_2$ kinase phosphorylation. Circulation 111: 1685–1689
[18] Grosser T, Fries S, FitzGerald GA (2006) Biological basis for the cardiovascular consequences of COX-2 inhibition: therapeutic challenges and opportunities. J Clin Invest 116: 4–15

[19] Steffel J, Luscher TF, Tanner FC (2006) Tissue factor in cardiovascular diseases: molecular mechanisms and clinical implications. Circulation 113: 722–731

[20] Mackman N (1997) Regulation of the tissue factor gene. Thromb Haemost 78: 747–754

[21] Steffel J, Latini RA, Akhmedov A et al. (2005) Rapamycin, but not FK-506, increases endothelial tissue factor expression: implications for drug-eluting stent design. Circulation 112: 2002–2011

[22] Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP et al. (2000) Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. Arterioscler Thromb Vasc Biol 20: 1262–1275

[23] Steffel J, Lüscher TF (2008) Endothelium and Hemostasis in Health and Disease. In: Scharf RE, ed. Progress and Challenges in Transfusion Medicine, Hemostasis, and Hemotherapy. Karger, Freiburg i. Br., S 24–36

# 12 Monozyten und Leukozyten

*Ch. Weber*

## Einleitung

Monozyten und Leukozyten interagieren mit dem Hämostasesystem über verschiedene Mechanismen. Aktivierte Monozyten und Leukozyten können das plasmatische Gerinnungssystem durch die Expression von Tissue Factor aktivieren. Die daraus resultierende Fibrinbildung trägt dazu bei, den Entzündungsprozess zu begrenzen, und behindert die Ausbreitung von Bakterien und anderen Krankheitserregern. Durch direkten zellulären Kontakt können Monozyten und Leukozyten Endothelzellen aktivieren und eine prokoagulatorische Antwort induzieren. Dies wird durch die Sezernierung von Zytokinen und anderen proinflammatorischen Mediatoren verstärkt, die neben der Endothelzellaktivierung die hepatische Synthese von Gerinnungsfaktoren stimulieren können. Weiterhin sind Monozyten und Leukozyten eine Hauptquelle für die Bildung von an Tissue Factor reichen Mikropartikeln. Diese ermöglichen die Aufrechterhaltung einer basalen Gerinnungsaktivierung, sind in die Gerinnselbildung involviert und spielen wahrscheinlich eine wichtige Rolle in der Pathogenese von thromboembolischen Prozessen.

## 12.1 Tissue-Factor-Expression

Tissue Factor (TF; ▶ Kap. 15) ist seit Langem als der wichtigste Initiator für den extrinsischen Weg der Blutgerinnungskaskade bekannt. Neuere Untersuchungen der molekularen Regulation der Tissue-Factor-Expression in Gefäßzellen deuten jedoch auch auf eine zentrale Rolle in der Pathogenese der Atherosklerose und deren Komplikationen wie Herzinfarkt, Schlaganfall oder periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK) hin [1–4].

TF ist konstitutiv auf subendothelialen Zellen exprimiert. Im peripheren Blut zirkulieren geringe Mengen an sogenanntem »blood borne« TF auf Mikropartikeln, die von Endothelzellen, glatten Gefäßmuskelzellen, Leukozyten, Thrombozyten oder atherosklerotischen Plaques stammen. Unter physiologischen Bedingungen finden sich hohe Tissue-Factor-Konzentrationen in Epithelzellen, Astrozyten, Kardiomyozyten, gefäßumhüllenden adventitiellen Fibroblasten und Perizyten. Auch in der Tunica media der Gefäßwand wird TF in einzelnen Zellen exprimiert. Im Gegensatz dazu zeigen Endothelzellen und im Blut zirkulierende Monozyten unter physiologischen Bedingungen eine sehr geringe oder keine TF-Expression. Damit wird ein direkter Kontakt von TF mit dem Blutkreislauf verhindert und eine schnelle Initiierung der Blutgerinnung nach einer Gefäßverletzung mit Freilegung subendothelialen Bindegewebes im Sinne eines »Blutgerinnungsmantels« gewährleistet [4–10].

Inflammatorische Stimuli können jedoch in Zellen mit niedrigerer basaler TF-Expression, wie Endothelzellen, glatten Gefäßmuskelzellen, Monozyten, neutrophilen Granulozyten und Thrombozyten, eine Hochregulation und damit eine Erhöhung der TF-Aktivität bewirken [4–10].

Endotoxin, C-reaktives Protein (CRP), CD40-Ligand, »platelet derived growth factor-BB« (PDGF-BB), Angiotensin II und »oxidized low density lipoprotein« (oxLDL) induzieren die TF-Expression sowohl in zirkulierenden Monozyten als auch in Makrophagen. Für Lipopolysaccharide (LPS) konnte gezeigt werden, dass die erhöhte Expression von TF in Monozyten über Kinase p38, p44/42 (ERK) und c-jun N-terminale Kinase (JNK) auf einer nukleären Translokation der Transkriptionsfaktoren »early growth response gene« (EGR-1), c-Fos/c-Jun und c-REl/p65 beruht. Diese Transkriptionsfaktoren binden wiederum EGR-1, Aktivatorprotein-1 (AP-1) und »nuclear factor κB« (NF-κB) des TF-Promotors und führen somit zu einer erhöhten nukleären Messenger-RNA-(mRNA-)Transkription. Die Hyperkoagulabilität des Blutes septischer Patienten ist daher zu einem großen Teil Folge der erhöhten TF-Aktivität im zirkulierenden Blut [4–10].

Einen weiteren Stimulus für Makrophagen in einer atherosklerotischen Läsion stellen die von T-Helfer-Zellen (TH1) produzierten und in das Interstitium sezernierten proinflammatorischen Zytokine Tumornekrosefaktor-α (TNF-α) und Interferon-γ (IFN-γ) dar. Die von TH2-Zellen sezernierten Zytokine Interleukin-4 (Il-4), Il-10 und Il-13 hingegen supprimieren die TH1-induzierte TF-Expression. In Schaumzellen transformierte Makrophagen zeigen ebenfalls eine erhöhte TF-Aktivität und werden für einen großen Teil der Überexpression von TF im Inneren atherosklerotischer Plaques verantwortlich gemacht. TF stimuliert innerhalb der atherosklerotischen Plaque die Migration und Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen und führt somit zur Plaqueprogression. Die aufgrund der erhöhten Komplikationsrate gefürchtete Destabilisierung der Plaque wird durch die vermehrte TF-induzierte Gefäßneubildung weiter vorangetrieben.

Kardiovaskuläre Risikofaktoren sowie manifeste kardiovaskuläre Erkrankungen beeinflussen ebenfalls die TF-Ex-

pression von Leukozyten und insbesondere der Monozyten. So führt vermehrt gebildetes Angiotensin II bei Patienten mit arterieller Hypertonie zu einer erhöhten TF-Expression, die durch Antihypertensiva (ACE-Inhibitoren, AT-I-Inhibitoren) vermindert werden kann.

Bei Patienten mit Diabetes mellitus führen zu hohe Blutglukosespiegel zur Bildung sogenannter »advanced glycation end-products« (AGE). Diese AGE vermitteln eine durch »receptor for AGE« (RAGE) mediierte Aktivierung von NF-κB und damit eine erhöhte TF-Aktivität in Monozyten. OxLDL erhöht die TF-Expression in Endothelzellen, Monozyten und Makrophagen, wohingegen »high density lipoprotein« (HDL) und Lipidsenker aus der Klasse der Statine zu einer Verminderung der Expression führen. Der protektive Effekt der Statine kann dabei zumindest teilweise durch die antiinflammatorischen Eigenschaften dieser Medikamente erklärt werden. Im Gegensatz dazu reduzieren Fibrate, eine weitere Medikamentengruppe, die zur Therapie der Dyslipidämie eingesetzt wird, die monozytäre TF-Expression über Aktivierung von »peroxisome proliferator activated receptor α« (PPARα).

Diese neuen Erkenntnisse machen deutlich, dass die gezielte medikamentöse Beeinflussung der TF-Expression zum Beispiel durch Antikörper eine vielversprechende Strategie in der Therapie und Prävention kardiovaskulärer Erkrankungen darstellt.

## 12.2 Mikropartikel

In jüngerer Zeit gibt es immer mehr Entdeckungen, die auf einen wichtigen Effekt von leukozytären Mikropartikeln hinweisen. Es konnte gezeigt werden, dass diesen bei der Regulation von zellulärer Kommunikation, Immunität, Endotheldysfunktion und Hämostase eine besondere Rolle zukommt.

Beispielsweise werden Endothelzellen von Mikropartikeln aktiviert oder nehmen leukozytäre Antigene passiv auf, wodurch es zu Veränderungen von zellulären und membrangebundenen Adhäsionsmolekülen kommt [11, 12]. Da zudem Mikropartikel für die Verbreitung von Fas-Ligand über lange Strecken verantwortlich gemacht werden, könnte über diesen Mechanismus Apoptose fernab des Primärortes induziert werden [13]. Als weiteres inflammatorisches Agens konnte in den Mikropartikeln Il-1β nachgewiesen werden, nachdem diese von der Leukozytenoberfläche abgespalten wurden [14]. Zudem sind sie eine Quelle für eine Gruppe von Phospholipiden, aus denen Phospholipase $A_2$ synthetisiert wird, welche stark proinflammatorisch und plättchenaktivierend ist [15]. Als Untergruppe der Mikropartikel gelten die sogenannten Ektosomen, die von Neutrophilen im Rahmen von Entzündungen freigesetzt werden und an opsonisierte Bakterien binden. Dadurch könnten sie die antimikrobielle Aktivität auf opsonisierte Oberflächen lenken [16].

**! Weit wichtiger als für Entzündungsprozesse sind die Mikropartikelim Kontext der Endothelfunktion, Hämostase und plasmatischen Gerinnung.**

An Patienten mit Herzinfarkt wurde gezeigt, dass zirkulierende Mikropartikel zu einer Störung des Stickstoffmonoxid-(NO-)Stoffwechsels und konsekutiv zu Endothelschäden führen [17]. Ähnliche Effekte zeigen Mikropartikel von T-Zellen, die über Änderungen des NO- und Prostazyklinstoffwechsels wirken [18]. Zudem werden Monozyten-Endothel-Interaktionen durch Mikropartikel verstärkt, was in Verbindung mit der endothelialen Dysfunktion zur Initiation der Atherosklerose führen kann. Auch im weiteren Verlauf der Erkrankungen spielen sie eine wichtige Rolle – dies wurde durch den Fund von leukozytären Mikropartikeln in humanem Plaquematerial bestätigt. Die dort erhöhte Expression von Tissue Factor [19] konnte auch nach Aktivierung mit Il-6, Il-8 und »monocyte chemotactic protein-1« (MCP-1) beobachtet werden [20].

Überhaupt können Mikropartikel aus Leukozyten mit Plättchen und deren Mikropartikeln zu Mikropartikeln fusionieren, die reich an Tissue Factor sind [21]. In dieser Kolokalisation konnten sie auch in experimentellen Thrombi nachgewiesen werden, was die Bedeutung leukozytärer Mikropartikel in der Hämostase unterstreicht [22].

## 12.3 Aktivierung

Ein in jüngster Vergangenheit verstärkt belichteter Aspekt bei der Thrombogenese ist der Einfuss aktivierter Leukozyten als Quelle von Tissue Factor. Dabei sind Leukozyten wichtige Teilnehmer bei der inflammatorischen Antwort auf die Exposition von subendothelialem Gewebe und spielen eine bedeutende Rolle bei der Verknüpfung der Inflammation mit der Gerinnungskaskade.

Ruhende Monozyten haben genuin nur eine geringe Tissue-Factor-Aktivität. Durch inflammatorische Mediatoren wie bakterielle Lipopolysaccharide, Il-1, Antigen-Antikörper-Komplexe, Tumornekrosefaktor-α (TNF-α), Plättchenmembranen, C-reaktives Protein, »reactive oxygen species« (ROS) und Komplementfaktor 5a wird aber die De-novo-Synthese von Tissue factor induziert oder aber intrazellulärer TF verstärkt exprimiert [23]. Die zirkulierenden Monozyten werden von Zytokinen und vor allem Chemokinen, die vom verletzten Gewebe freigesetzt werden, zum Ort des Gewebeschadens gelockt [24–26], wo sie auf dem aktivierten Endothel rollen und dann über eine Vielzahl von Integrinen und Adhäsionsmolekülen eine feste Bindung eingehen [27–28]. Ein weiterer Mechanismus bei der Rekrutierung von Monozyten besteht in der Abla-

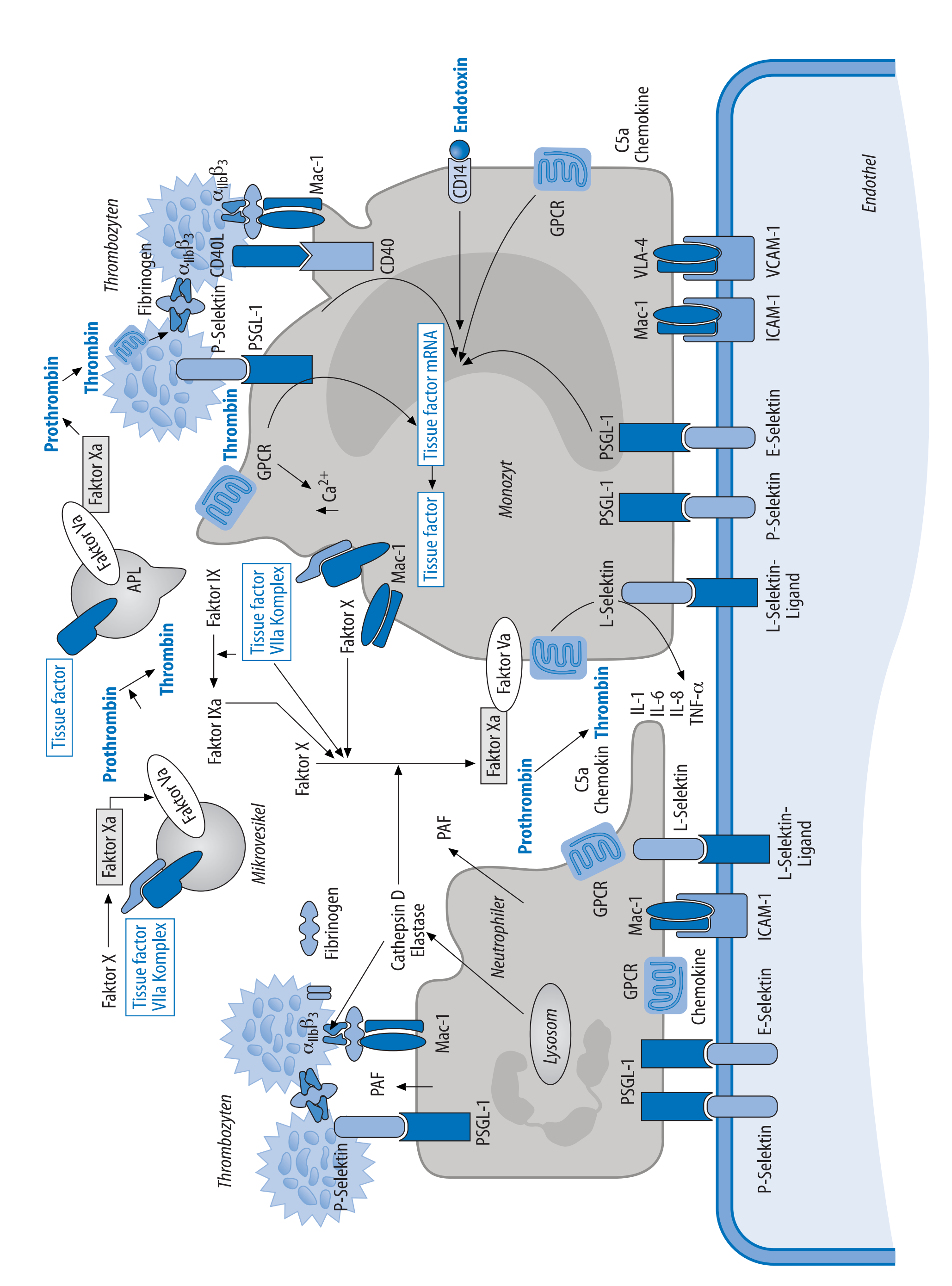



**Abb. 12.1.** Interaktion von Leukozyten mit dem Endothel. Leukozyten werden nach Adhäsion am aktivierten Endothel durch Chemokine zur Freisetzung lysosomaler Enzyme (Kathepsin-G, Elastase) stimuliert. »Platelet activating factor« (PAF), Tissue Factor und Prostaglandine aktivieren Thrombozyten, welche konsekutiv die Gerinnungskaskade und – über CD40L – weitere Leukozyten aktivieren. *APL* »anionic phospholipid«, *GPCR* »G-protein coupled receptor«, *ICAM-1* »intercellular cell adhesion molecule-1«, *PSGL-1* »P-selectin glycoprotein ligand-1«, *VCAM* »vascular cell adhesion molecule-1«

gerung thrombozytärer Moleküle auf dem Endothel. Dabei wirken Plättchenmikropartikel (PMP) als Vektor und bewirken eine gesteigerte Monozytenadhäsion [29].

Dieses Beispiel zeigt, wie Entzündung und Gerinnung ein komplexes Netzwerk bilden, in dem beide Mitspieler sich gegenseitig beeinflussen. So wirkt unter anderem Thrombin, das zentrale Molekül der Gerinnungskaskade, chemotaktisch auf neutrophile Granulozyten und Monozyten und stimuliert dabei die Freisetzung der Interleukine Il-1 und Il-8, welche wiederum stark inflammatorisch wirksam sind [30].

Für die Verknüpfung von Plättchen – den »key playern« – und dem Endothel bei der Hämostase kommt dem leukozytären Protein »P-selectin glycoprotein ligand-1« (PSGL-1) eine entscheidende Rolle zu. PSGL-1 bindet sowohl an thrombozytäres als auch an endotheliales P-Selektin und stellt damit eine direkte Brücke zwischen Plättchen und Endothel her [31–33]. Wie gezeigt werden konnte,

bewirkt die Defizienz an P-Selektin oder PSGL-1 im Mausmodell eine gestörte Leukozytenrekrutierung und Thrombusformation; die Antikörperblockade führt zu zu kleineren und unstrukturierten Blutkoageln [34–36]. Zudem binden Monozyten über ihr Oberflächenprotein Mac-1 ($\alpha_M\beta_2$ oder CD11/18) den Faktor X. Mac-1-gebundener Faktor X kann von Kathepsin-G, einer Protease aus Neutrophilen, zu Faktor Xa aktiviert werden [37]. Kathepsin G und Elastase aus Neutrophilen können zudem die $\alpha_{IIb}$-Untereinheit des Plättchenintegrins $\alpha_{IIb}\beta_3$ spalten [38]. Die bewirkte Konformationsänderung führt zu einer Bindung von Fibrinogen und schließlich zur Thrombozytenaggregation (Abb. 12.1, [24]).

An Endothel gebundene Monozyten sezernieren TNF-α und ROS und induzieren autokrin die Expression von Tissue Factor sowie parakrin die Freisetzung von Von-Willebrand-Faktor, wodurch die Plättchenadhäsion noch weiter gesteigert wird [39].

## 12.4 Zytokine

Humane vaskuläre Zellen und insbesondere Makrophagen in der atherosklerotischen Plaque sind potenziell in der Lage, sowohl proinflammatorische als auch antiinflammatorische Zytokine zu sezernieren, und sind damit sowohl Quelle als auch Ziel von Zytokinen [41]. Zu den proinflammatorischen Zytokinen zählen u.a. TNF-α, Il-1, Il-6, Il-8 und IFN-γ. TGF-β sowie Il-10 sind die wichtigsten von vaskulären Zellen produzierten antiinflammatorischen Zytokine.

Einen besonderen Stellenwert unter den Zytokinen nehmen die sogenannten Chemokine ein. Diese Familie strukturell ähnlicher chemotaktisch wirkender Zytokine werden gemäß ihrer N-terminalen Cysteinreste in Subgruppen klassifiziert (CC, CXC, C, CX3C). Wichtigste Vertreter der CC-Chemokine sind MCP-1 (CCL2) und RANTES (»regulated upon activation normal T-cell expressed and secreted«) (CCL5). Unter den CXC-Chemokinen sind GRO (»growth related oncogene«, CXCL1), Il-8 (CXCL8) und SDF-1 (»stromal cell derived factor«, CXCL12) besonders hervorzuheben. Fraktalkine (CX3CL1) ist das einzige bekannte CX3C-Chemokin [40, 42, 43].

TNF-α und IFN-γ induzieren sowohl die Expression von Adhäsionsmolekülen wie P-Selektin, E-Selektin, ICAM-1 (»intercellular cell adhesion molecule-1«) und VCAM-1 (»vascular cell adhesion molecule-1«) auf Endothelzellen als auch die Freisetzung von Chemokinen (MCP-1, SDF-1, MIF) [44, 45]. Monozyten interagieren dabei über ihre Adhäsionsmoleküle VLA-4, $\beta_2$-Integrin und PECAM-1 (»platelet-endothelial cell adhesion molecule-1«) mit en-

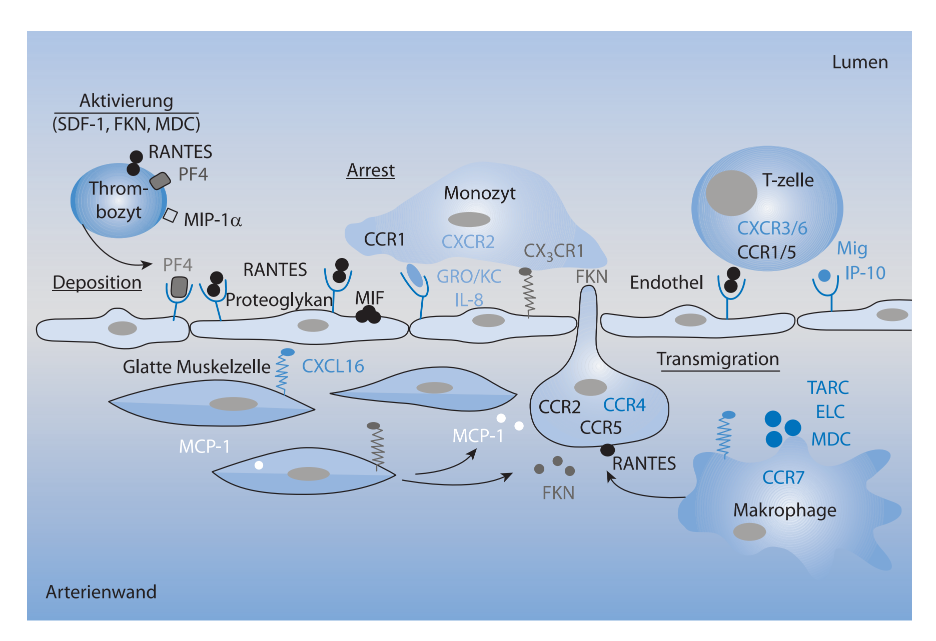



**Abb. 12.2.** Zentrale Zytokine für die Rekrutierung von Makrophagen in atherosklerotische Läsionen. Chemokine und Rezeptoren, die an der Rekrutierung mononukleärer Zellen in Läsionen beteiligt sind. Aktivierte Thrombozyten lagern Chemokine wie RANTES oder PF4 auf Endothelzellen (*EC*) atherosklerotischer Frühläsionen ab, wo RANTES-Oligomere den CCR1-abhängigen Monozytenarrest auslösen. Endotheliales Fraktalkine (*FKN*) und CXCL1, über Heparanproteoglykane immobilisiert, induzieren die feste Adhäsion von Monozyten über CX3CR1 bzw. CXCR2. CXCL9 und CXCL10 auf EC exprimiert und immobilisiert vermitteln den Arrest von T-Zellen über CXCR3. Glatte Muskelzellen (*SMC*) präsentieren die Chemokine FKN und CXCL16 und sezernieren MCP-1, welche über CCR2 bzw. CX3CR1 oder CXCR6 subintimale Einwanderung von Monozyten oder T-Zellen auslösen. Extravasale Monozyten können sich in Makrophagen umwandeln oder in dendritische Zellen differenzieren, die CCR7, dessen Liganden (*ELC*, *MDC* und *TARC*) sowie CCL17 exprimieren und dadurch CCR4-beladene T-Zellen rekrutieren. MIF, das in EC und Makrophagen hochreguliert ist, trägt wahrscheinlich zur Makrophagenakkumulation bei

dothelialem VCAM-1, ICAM-1, P- und E-Selektin und führen dadurch nach kurzem Rollen zu einer festen Adhäsion an der Stelle der Aktivierung.

Als nächster Schritt erfolgt die Transmigration der Monozyten durch interendotheliale Zellkontakte hindurch. Vorrangig wirken bei der nachfolgenden Migration entlang eines Konzentrationsgradienten »monocyte chemotactic protein-1« (MCP-1), »stromal cell derived factor-1α« (SDF-1α) und »macrophage migration inhibitory factor« (MIF) über ihre monozytären Rezeptoren CCR2, CXCR4 und CXCR2. »Monocyte-colony stimulating factor« (M-CSF), ein Zytokin, das in der Gefäßintima nach Entzündung gebildet wird, bewirkt die Differenzierung eingewanderter Monozyten in Makrophagen, die ihrerseits wiederum Zytokine, Wachstumsfaktoren und Proteasen (Kollagenasen, Kathepsine) produzieren und sezernieren [46]. M-CSF kommt daher eine Schlüsselrolle in der frühen Phase der Atherosklerose zu, da eine Differenzierung der Monozyten ohne dieses Molekül nicht stattfinden kann.

Die durch proinflammatorische Zytokine (TNF-α, IFN-γ, Il-12) und T-Helferzellen aktivierten Makrophagen exprimieren vermehrt »Toll-like receptors« sowie sogenannte Scavenger-Rezeptoren (SR-A, CD36 und CD68), über die LDL-gebundene Cholesterinester vermehrt in die Zelle aufgenommen werden. Darüber hinaus werden vermehrt nekrotisches Material und Zelldebris phagozytiert [45].

Somit stellen Zytokine und insbesondere Chemokine vielversprechende Ansatzpunkte in der Therapie der Atherosklerose dar.



## Literatur


[1] Bogdanov VY et al. (2003) Alternatively spliced human tissue factor: a circulating, soluble, thrombogenic protein. Nat Med 9(4): 458–462

[2] Guha M, Mackman N (2002) The phosphatidylinositol 3-kinase-Akt pathway limits lipopolysaccharide activation of signaling pathways and expression of inflammatory mediators in human monocytic cells. J Biol Chem 277(35): 32124–32132

[3] Hansson GK (2005) Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. N Engl J Med 352(16): 1685–1695

[4] Mackman N (2004) Role of tissue factor in hemostasis, thrombosis, and vascular development. Arterioscler Thromb Vasc Biol 24(6): 1015–1022

[5] Muth H et al. (2005) Differential gene expression in activated monocyte derived macrophages following binding of factor VIIa to tissue factor. Thromb Haemost 94(5): 1028–1034

[6] Napoleone E, Di Santo A, Lorenzet R (1997) Monocytes upregulate endothelial cell expression of tissue factor: a role for cell-cell contact and cross-talk. Blood 89(2): 541–549

[7] Pawlinski R et al. (2004) Role of tissue factor in haemostasis, thrombosis, angiogenesis and inflammation: lessons from low tissue factor mice. Thromb Haemost 92(3): 444–450

[8] Steffel J, Luscher TF, Tanner FC (2006) Tissue factor in cardiovascular diseases: molecular mechanisms and clinical implications. Circulation 113(5): 722–731

[9] Szotowski B et al. (2005) Procoagulant soluble tissue factor is released from endothelial cells in response to inflammatory cytokines. Circ Res 96(12): 1233–1239

[10] Wilcox JN et al. (1989) Localization of tissue factor in the normal vessel wall and in the atherosclerotic plaque. Proc Natl Acad Sci USA 86(8): 2839–2843

[11] Mesri M, Altieri DC (1998) Endothelial Cell Activation by Leukocyte Microparticles. J Immunol 161: 4382–4387

[12] Hugel B, Martinez MC, Kunzelmann C et al. (2005) Membrane microparticles: two sides of the coin. Physiology 20: 22–27

[13] Albanese J, Meterissian S, Kontogiannea M et al. (1998) Biologically active Fas antigen and its cognate ligand are expressed on plasma membrane derived extracellular vesicles. Blood 91:3862–3874

[14] MacKenzie A, Wilson HL, Kiss-Toth E et al. (2001) Rapid secretion of interleukin-1beta by microvesicle shedding. Immunity 15: 825–835

[15] Fourcade O, Simon MF, Viode C et al. (1995) Secretory phospholipase A2 generates the novel lipid mediator lysophosphatidic acid in membrane microvesicles shed from activated cells. Cell 80: 919–927

[16] Hess C, Sadallah S, Hefti A et al. (1999) Ectosomes released by human neutrophils are specialized functional units. J Immunol 163: 4564–4573

[17] Boulanger CM, Scoazec A, Ebrahimian T et al. (2001) Circulating microparticles from patients with myocardial infarction cause endothelial dysfunction. Circulation 104: 2649–2652

[18] Martin S, Tesse A, Hugel B et al. (2004) Shed membrane particles from T lymphocytes impair endothelial function and regulate endothelial protein expression. Circulation 109: 1653–1659

[19] Leroyer AS, Isobe H, Leseche G et al. (2007) Cellular origins and thrombogenic activity of microparticles isolated from human atherosclerotic plaques. J Am Coll Cardiol 49: 772–777

[20] Mesri M, Altieri DC (1999) Leukocyte microparticles stimulate endothelial cell cytokine release and tissue factor induction in a JNK1 signaling pathway. J Biol Chem 274: 23111–23118

[21] Osterud B (2001) The role of platelets in decrypting monocyte tissue factor. Semin Hematol 38: 2–5

[22] Giesen PLA, Rauch U, Bohrmann B et al. (1999) Blood-borne tissue factor: Another view of thrombosis. Prc Nat Acad Sci USA 96: 2311–2315

[23] Eilertsen KE, Osterud B (2004) Tissue factor: (patho)physiology and cellular biology. Blood Coagul Fibrinolysis 15: 521–538

[24] Afshar-Kharghan V, Thiagarajan P (2006) Leukocyte adhesion and thrombosis. Curr Opin Hematol 13: 34–39

[25] Charo IF, Taubman MB (2004) Chemokines in the pathogenesis of vascular disease. Circ Res 95: 858–866

[26] Schecter AD, Rollins BJ, Zhang YJ et al. (1997) Tissue factor is induced by monocyte chemoattractant protein-1 in human aortic smooth muscle and THP-1 cells. J Biol Chem 272: 28568–28573

[27] Nourshargh S, Krombach F, Dejana E (2006) The role of JAM-A and PECAM-1 in modulating leukocyte infiltration in inflamed and ischemic tissues. J Leukoc Biol 80: 714–718

[28] Ostermann G, Weber KS, Zernecke A et al. (2002) JAM-1 is a ligand of the beta(2) integrin LFA-1 involved in transendothelial migration of leukocytes. Nat Immunol 3: 151–158

[29] Mause SF, von Hundelshausen P, Zernecke A (2005) Platelet microparticles: a transcellular delivery system for RANTES promoting monocyte recruitment on endothelium. Arterioscler Thromb Vasc Biol 25: 1512–1518

[30] Suk K, Cha S (1999) Thrombin-induced interleukin-8 production and its regulation by interferon-gamma and prostaglandin E2 in human monocytic U937 cells. Immunol Lett 67: 223–227

[31] McEver RP, Cummings RD (1997) Perspectives series: cell adhesion in vascular biology. Role of PSGL-1 binding to selectins in leukocyte recruitment. J Clin Invest 100: 485–491

[32] Merten M, Beythien C, Gutensohn K et al. (2005) Sulfatides activate platelets through P-selectin and enhance platelet and platelet-leukocyte aggregation. Arterioscler Thromb Vasc Biol 25: 258–263

[33] Vandendries ER, Furie BC, Furie B (2004) Role of P-selectin and PSGL-1 in coagulation and thrombosis. Thromb Haemost 92: 459–466
[34] Merten M, Thiagarajan P (2000) P-selectin expression on platelets determines size and stability of platelet aggregates. Circulation 102: 1931–1936
[35] Palabrica T, Lobb R, Furie BC et al. (1992) Leukocyte accumulation promoting fibrin deposition is mediated in vivo by P-selectin on adherent platelets. Nature 359: 848–851
[36] Subramaniam M, Frenette PS, Saffaripour S et al. (1996) Defects in hemostasis in P-selectin-deficient mice. Blood 87: 1238–1242
[37] Plescia J, Altieri DC (1996) Activation of Mac-1 (CD11b/CD18)-bound factor X by released cathepsin G defines an alternative pathway of leucocyte initiation of coagulation. Biochem J 319(Pt3): 873–879
[38] Trumel C, Si-Tahar M, Balloy V et al. (2000) Phosphoinositide 3-kinase inhibition reverses platelet aggregation triggered by the combination of the neutrophil proteinases elastase and cathepsin G without impairing alpha(IIb)beta(3) integrin activation. FEBS Lett 484: 184–188
[39] Vischer UM, Jornot L, Wollheim CB et al. (1995) Reactive oxygen intermediates induce regulated secretion of von Willebrand factor from cultured human vascular endothelial cells. Blood 85: 3164–3172
[40] Weber C, Schober A, Zernecke A (2004) Chemokines: key regulators of mononuclear cell recruitment in atherosclerotic vascular disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol 24(11): 1997–2008
[41] Linton MF, Fazio S (2003) Macrophages, inflammation, and atherosclerosis. Int J Obes Relat Metab Disord 27(Suppl3): S35–S40
[42] Schober A, Weber C (2005) Mechanisms of monocyte recruitment in vascular repair after injury. Antioxid Redox Signal 7(9–10): 1249–1257
[43] von Hundelshausen P, Weber C (2007) Platelets as immune cells: bridging inflammation and cardiovascular disease. Circ Res 100(1): 27–40
[44] Bernhagen J et al. (2007) MIF is a noncognate ligand of CXC chemokine receptors in inflammatory and atherogenic cell recruitment. Nat Med 13(5): 587–596
[45] Hansson GK (2005) Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. N Engl J Med 352(16): 1685–1695
[46] Lusis AJ (2000) Atherosclerosis. Nature 407(6801): 233–241

# 13 Erythrozyten

*Th. Wieder, F. Lang*

## Einleitung

Erythrozyten stellen mit einer Anzahl von 4,3–5,7 Mio./µl beim Mann bzw. 3,9–5,3 Mio./µl bei der Frau die häufigsten Zellen des Blutsystems und damit den mit Abstand größten Teil des zellulären Bestandteils des Bluts dar. Erythrozyten sind die einzigen kern- und organellenfreien Zellen des menschlichen Körpers und müssen daher aus kernhaltigen Progenitorzellen neu gebildet werden. Bei einer mittleren Lebensdauer von 120 Tagen bedeutet dies, dass jeden Tag ca. 200–300 Mrd. Erythrozyten gebildet und geordnet entsorgt werden müssen.

Eine strenge Kontrolle sowohl der Erythrozytenneubildung (Proliferation und Differenzierung) als auch der Aussortierung geschädigter bzw. gealterter Erythrozyten ist allein aus Mengenüberlegungen heraus unabdingbar. Während die Regulation der Proliferation und Differenzierung der Erythrozyten aus den hämatopoetischen Stammzellen unter Einfluss verschiedener Wachstums- und Differenzierungsfaktoren wie z. B. Interleukin-3 und Erythropoetin schon seit Längerem sehr gut untersucht und allgemein bekannt ist (vgl. Erslev 1953; Lee-Huang 1984), stellt insbesondere der stressinduzierte programmierte Erythrozytentod ein neueres Forschungsgebiet dar.

## 13.1 Struktur der Erythrozyten

Der reife Erythrozyt ist eine bikonkave, scheibenförmige Zelle mit einem Durchmesser von 7–8 µm (Abb. 13.1; Nunomura u. Takakuwa 2006). Seine Form erhält der Erythrozyt durch das unter der Zellmembran liegende und mit dieser über verschiedene Ankerpunkte verknüpfte Zytoskelett (Abb. 13.1a). Die Hauptbestandteile des Zytoskeletts werden von Spektrindimeren und Aktinbündeln gebildet. Das auf diesen Proteinen basierende Proteinskelett wird durch verschiedene Proteine in der Lipiddoppelschicht verankert (Abb. 13.1b). So wird Spektrin direkt über Ankyrin mit dem $Cl^-/HCO3^-$-Austauscher (einem integralen Membranprotein, auch Bande 3 genannt) verknüpft und über einen Proteinkomplex über das Membranprotein Glykophorin C weiterhin in der Membran gehalten. Dieser Proteinkomplex besteht aus aus Adducin, Aktin, Protein 4.1R80, p55 und Kalmodulin (Nunomura u. Takakuwa 2006). Durch laterale Wechselwirkungen entsteht somit ein komplexes Netzwerk, welches über die genannten Ankerpunkte mit der Lipiddoppelschicht verbunden ist und dem Erythrozyten seine Festigkeit bei gleichzeitiger Elastizität verleiht.

Die bikonkave Scheibchenform des Erythrozyten ist optimal an seine Hauptaufgabe, den Transport der Atemgase Sauerstoff ($O_2$) und Kohlendioxid ($CO_2$), angepasst. Die Scheibchenform bietet zum einen eine große Oberfläche für den Gasaustausch und gestattet darüber hinaus eine enorme Flexibilität, um der Zelle die Passage durch Kapillaren, deren Durchmesser kleiner ist als ihr eigener, zu ermöglichen.

Auf der Oberfläche der Erythrozyten befinden sich hauptsächlich 2 Typen von Proteinen: die bereits oben erwähnten Glykophorine (wie z. B. Glykophorin C) und der $Cl^-/HCO3^-$-Austauscher (Abb. 13.1b). Beide Membranproteine sind glykosyliert und bilden somit einen Teil der Glykokalix, die wiederum durch ihre Struktur für die Ausbildung der Blutgruppen verantwortlich ist. Nach dem von dem österreichischen Bakteriologen Karl Landsteiner entdeckten System unterscheidet man die Blutgruppen 0 (H-Antigen), A (A-Antigen), B (B-Antigen) und AB (A- und B-Antigen). Zusätzlich wird noch das RhD-Antigen bestimmt, das den Rhesusfaktor festlegt.

Unter speziellen Bedingungen können Erythrozyten in vitro auch andere, meist pathologische Formen annehmen: die Becherform und die Stechapfelform. Becherförmige Erythrozyten werden als Stomatozyten und stechapfelförmige als Echinozyten bezeichnet. Dahingegen ist eine Schistozyte ein im Abbau befindlicher Erythrozyt bzw. ein Fragment eines Erythrozyten. Bei sehr niedriger Fließgeschwindigkeit des Blutes können einzelne Erythrozyten aneinander haften und Ketten bilden. Man spricht dann von einer Geldrollenbildung oder Pseudoagglutination.

## 13.2 Funktion der Erythrozyten

Die Hauptfunktionen des Erythrozyten sind der $O_2$-Transport von der Lunge zu den $O_2$- verbrauchenden Organen sowie der Rücktransport eines Teils des dort entstandenen $CO_2$ zur Lunge. Der Erythrozyt enthält als hochspezialisierte Zelle keinen Zellkern und keine Mitochondrien. 95% der zytosolischen Proteine bestehen aus dem $O_2$- und $CO_2$-bindenden Hämoglobin.

Das adulte Hämoglobin ist ein Tetramer, dessen Untereinheiten jeweils aus einer Globinkette (Polypeptidanteil)

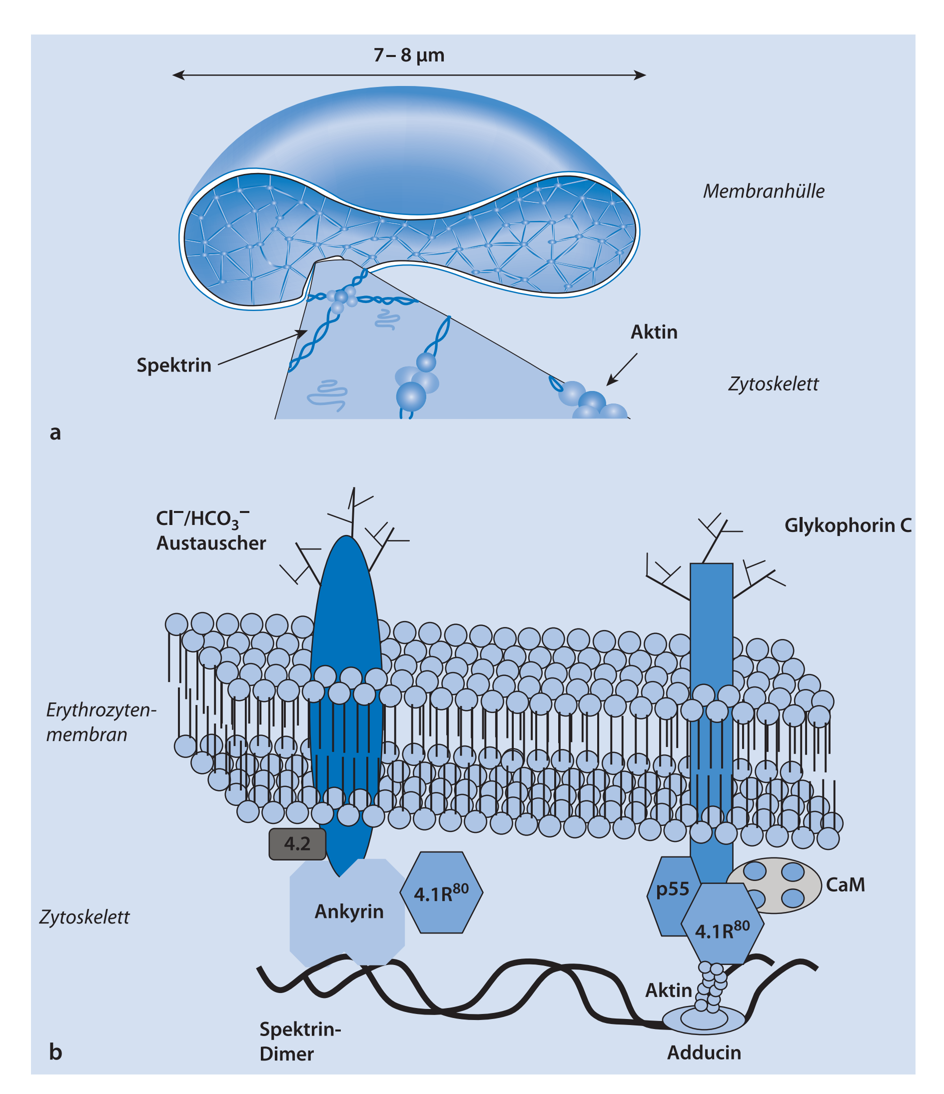



**Abb. 13.1a,b.** Erythrozytenmorphologie. **a** Bikonkave Erythrozytenform, **b** molekulare Verankerung des Zytoskeletts mit der Erythrozytenmembran. *4.2* Protein 4.2; *4.1R80* Protein 4.1R80; *p55* Protein 55; *CaM* Kalmodulin; *verzweigte Strichbäumchen* Glykosylierung der Membranproteine

und einem Häm-Anteil bestehen. Häm bezeichnet im Allgemeinen ein Metallion, welches in einem Porphyrinring gebunden ist. Im Hämoglobin ist dieses Metallion ein zweiwertiges Eisenion ($Fe^{2+}$), das mit dem Porphyrinring den Bindungsort für $O_2$ bildet. Die Affinität des Hämoglobins für $O_2$ wiederum ist vom pH-Wert abhängig (Bohr-Effekt). So führt die Erhöhung des pH-Werts zu einer Stimulierung der $O_2$-Bindung, während die Erniedrigung des pH-Wertes seine Abgabe erleichtert.

In den Kapillaren, wo der $O_2$-Partialdruck niedrig ist, wird das bei der Bildung von Bikarbonat ($HCO_3^-$) freigesetzte $H^+$ an Hämoglobin gebunden. Dadurch sinkt die $O_2$-Affinität des Hämoglobins und $O_2$ wird an das Gewebe abgegeben. Die $H^+$-Aufnahme durch Hämoglobin erleichtert den $CO_2$-Transport, indem die $HCO_3^-$ -Bildung stimuliert wird, das dann im Blut transportiert werden kann. Umgekehrt werden in den Lungen, wo der $O_2$-Partialdruck hoch ist, durch die verstärkte $O_2$-Bindung des Hämoglobins die Bohr-Protonen wieder freigesetzt. $H^+$ bildet mit Bikarbonat $CO_2$, das in der Folge abgeatmet wird. Darüber hinaus kann $CO_2$ in Form von Karbamaten (reversible Bindung des $CO_2$ an N-terminale Gruppen der Blutproteine) transportiert werden.

Aufgrund des Fehlens jeglicher Zellorganellen ist der Stoffwechsel der Erythrozyten stark eingeschränkt. So sind Erythrozyten zur Energiegewinnung in Form von Adenosintriphosphat (ATP) ausschließlich auf die Glykolyse angewiesen. Dafür wird Glukose insulinunabhängig in die Erythrozyten aufgenommen und glykolytisch zu Laktat abgebaut, wodurch netto 2 Mol ATP pro Mol Glukose gebildet

werden. Das gebildete ATP wird dann u. a. zur Aufrechterhaltung der Ionengradienten ($Na^+$/$K^+$-ATPase und $Ca^{2+}$-ATPase) und für die Signaltransduktion (u. a. Proteinphosphorylierungen) benötigt.

Neben chemischer Energie in Form von ATP benötigt der Erythrozyt in großen Mengen Reduktionsäquivalente, um dem laufend auf ihm lastenden Oxidationsdruck entgegenzuwirken. Dafür bedient er sich des Pentosephosphat-Stoffwechselwegs, der ebenfalls von der Glukose ausgeht und über mehrere Schritte zur Bildung von Ribulose-5-Phosphat führt. Die dabei aus 1 mol Glukose gebildeten 2 mol NADPH können dann direkt von der Glutathionreduktase genützt werden, um reduziertes Glutathion (GSH) zu synthetisieren, das anschließend für den oxidativen Schutz der Zelle zur Verfügung steht. In diesem Zusammenhang ist die reduktive Spaltung von aufoxidierten Lipidperoxiden durch die Glutathionperoxidase unter GSH-Verbrauch zu nennen.

### 13.2.1 Signaltransduktion

Lange Zeit galten Erythrozyten als relativ inerte Plasmamembranhüllen, die auf ihre Hauptaufgabe, das heißt den Gastransport, reduziert waren. Aus neueren Untersuchungen weiß man jedoch, dass Erythrozyten auf verschiedene extrazelluläre Stimuli reagieren und diese über bekannte Signaltransduktionswege ins Zellinnere weiterleiten können. So antworten humane Sichelzellerythrozyten auf die Behandlung mit proinflammatorischen Molekülen, wie z. B. plättchenaktivierendem Faktor (PAF), Endothelin-1 (ET-1) oder Interleukin-10 (Il-10), mit einer Erhöhung ihrer Gardoskanalaktivität, das heißt mit einer Erhöhung der $Ca^{2+}$-abhängigen Kaliumleitfähigkeit (Rivera et al. 2002). Weiterhin wurde durch Bindungsstudien mit radioaktiv markiertem Erythropoetin gezeigt, dass reife Erythrozyten noch Erythropoetinrezeptoren besitzen. Eine genaue Analyse der Bindungsdaten ergab eine Bindungsaffinität im Bereich von 290 pmol/l und eine durchschnittliche Anzahl von 6 Erythropoetinbindungsstellen pro Zelle (Myssina et al. 2003). Diese geringe Anzahl von Rezeptoren reichte jedoch aus, um in reifen Erythrozyten spezifische Wirkungen wie z. B. die Hemmung von erythrozytären Kationenkanälen zu bewirken (Abb. 13.2a).

Die Weiterleitung extrazellulärer Signale ins Zellinnere des Erythrozyten kann über Phospholipasen, Zyklasen, Rezeptortyrosinkinasen, assoziierte Proteinkinasen oder über das Öffnen von Ionenkanälen durch Veränderung der intrazellulären $Ca^{2+}$-Konzentration erfolgen (Barvitenko et al. 2005). So scheint klar zu sein, dass Erythrozyten alle Komponenten des NO/cGMP/Proteinkinase-G-Signalwegs exprimieren. Erythrozyten enthalten ihre eigene NO-Synthase ebenso wie die lösliche Guanylatzyklase, und es wurde gezeigt, dass NO in der Lage ist, den K-Cl-Kotransport zu aktivieren und dadurch die Zellphysiologie zu beeinflussen. Weiterhin wurden experimentelle Befunde veröffentlicht, die zeigen, dass Erythrozyten mehrere Isoenzyme der Proteinkinase C (PKCα, PKCι, PKCμ, and PKCζ) enthalten, die zumindest teilweise mittels Phorbolester aktiviert werden können und somit ebenfalls sehr wahrscheinlich an der Regulation der Zellfunktion beteiligt sind (Andrews et al. 2002). Sowohl die oben beschriebenen Signalmoleküle als auch die beteiligten Signaltransduktionswege zeigen Überschneidungen mit den Signalwegen, die im Endeffekt zum stressinduzierten Zelltod führen.

### 13.2.2 Stressinduzierter Erythrozytentod

Erythrozyten unterliegen wie alle anderen Zellen des Körpers im Laufe ihres Lebens verschiedenartigen Stressoren. Im Durchschnitt passieren sie einmal in der Minute die Lunge, wo sie oxidativem Stress ausgesetzt sind. Mehr als einmal in der Stunde gelangen sie in das Nierenmark, wo sie extremen osmotischen Bedingungen ausgesetzt sind. Weiterhin müssen sich Erythrozyten durch Kapillaren schlängeln, die kleiner als sie selbst sind, was einer sehr großen mechanischen Beanspruchung entspricht. Diese Einflüsse können zu teilweise irreparablen Schädigungen der betroffenen Zellen führen. Im Schnitt werden infolge dessen jeden Tag 200–300 Mrd. Erythrozyten ersetzt.

Wenn die Erythrozytenlebensdauer ausschließlich durch Hämolyse reguliert würde, müssten täglich ungefähr 10 g Hämoglobin freigesetzt werden. Hämoglobin, das die Bindungskapazität von Haptoglobin überschreitet, würde durch die Glomeruli der Niere gefiltert, im sauren Lumen der Tubuli ausfallen und im Endeffekt zu Nierenversagen führen. Um dies zu verhindern, benötigen auch Erythrozyten einen Mechanismus, mit dessen Hilfe sie entfernt werden, ohne dass die intrazellulären Komponenten freigesetzt werden und dem Organismus Schaden daraus erwächst.

Die schonendste Methode zur Entfernung überflüssiger Zellen stellt der programmierte Zelltod (oder Apoptose) dar, an dessen Ende die in apoptotische Körperchen zerfallenen Zellen phosphatidylserinrezeptorgesteuert von Fresszellen phagozytiert werden. Lange Zeit wurden Erythrozyten – aufgrund des Fehlens von Zellkern und Mitochondrien und somit der beiden für die Apoptose wichtigsten Zellorganellen – als einziger Zelltypus des Säugetierorganismus beschrieben, der keine Apoptose durchführt. Experimente in verschiedenen Laboratorien konnten jedoch nachweisen, dass

- die Aktivierung von $Ca^{2+}$-permeablen Kationenkanälen in der Erythrozytenmembran,
- die darauf folgende Erhöhung der zytosolischen $Ca^{2+}$-Konzentration (Lang et al. 2003a) sowie

- die Aktivierung einer erythrozytären Sphingomyelinase mit darauf folgender Bildung des proapoptotischen Lipidbotenstoffes Ceramid (Lang et al. 2004a)

zur Zellschrumpfung, zur Formierung von Membranausbuchtungen und schließlich zum Zusammenbruch der Membranasymmetrie führen. In der Folge wird Phosphatidylserin im äußeren »leaflet« der Membran exponiert und damit von außen zugänglich (Bratosin et al. 2001).

In einer Reihe mechanistischer Untersuchungen konnten die Signalkaskaden des programmierten Erythrozytentods zumindest teilweise aufklärt werden: während die Kationenkanäle durch Prostaglandin E2 ($PGE_2$) aktiviert und durch Erythropoetin gehemmt werden, wird die Sphingomyelinase über den plättchenaktivierenden Faktor stimuliert (Lang et al. 2006a). Weiterhin spielt die Aktivierung der in Erythrozyten vorhandenen Proteinkinase C bei der Phosphatidylserinexposition eine ausschlaggebende Rolle, wie bereits früher aus den Ergebnissen nach artifizieller Stimulierung des erythrozytären Enzyms mittels Phorbolesterbehandlung angenommen wurde.

In der Zwischenzeit konnten diese Ergebnisse bestätigt und in analoger Weise im Zusammenhang mit dem stressinduzierten Erythrozytentod nachgewiesen werden. So führt die Energiedepletion nach Glukoseentzug aus dem Kulturmedium zur Translokation der PKCα an die Erythrozytenmembran und dadurch zu deren Aktivierung. Dies hängt wiederum ursächlich mit dem Zusammenbruch der Phosphatidylserinasymmetrie der Plasmamembran zusammen. Die Signalwege und die Regulation des programmierten Erythrozytentods nach zellulärem Stress sind in Abb. 13.2a zusammengefasst.

Gesteigerte Eryptose wurde bei einer Reihe von Erkrankungen beobachtet. Zu ihnen gehören:

- Phosphatdepletion (Birka et al. 2004)
- Eisenmangelanämie (Kempe et al. 2006)
- hämolytisch-urämisches Syndrom (Lang et al. 2006b)
- Sepsis (Kempe et al. 2007)
- Malaria (Brand et al. 2003)
- Wilson-Krankheit (Lang et al. 2007)
- genetische Erythrozytendefekte wieSichelzellanämie, Thalassämie und Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Mangel (Lang et al. 2002)

Eryptose kann ferner durch eine Reihe von Substanzen ausgelöst werden, beispielsweise

- Paclitaxel (Lang et al. 2006c)
- Methylglyoxal (Nicolay et al. 2006)
- Chlorpromazin (Akel et al. 2006)
- Zyklosporin (Niemöller et al. 2006)
- Amyloidpeptid (Nicolay et al. 2007)
- Quecksilber (Eisele et al. 2006)
- Blei (Kempe et al. 2005)

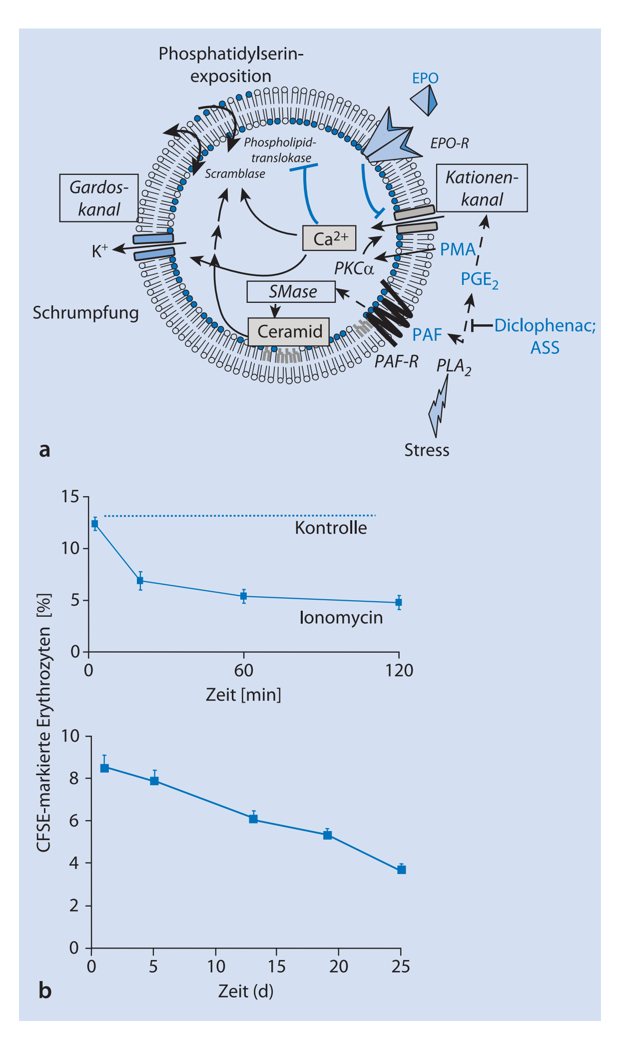



**Abb. 13.2a,b.** Programmierter Erythrozytentod (Eryptose). **a** Regulation des programmierten Erythrozytentods nach zellulärem Stress, **b** Eliminierung fluoreszenzmarkierter Erythrozyten aus dem peripheren Blut. *ASS* Acetylsalicylsäure; *CFSE* »carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester«; *EPO* Erythropoetin; *EPO-R* Erythropoetinrezeptor; *PAF* plättchenaktivierender Faktor; *PAF-R* Plättchenaktivierender-Faktor-Rezeptor; *$PGE_2$* Prostaglandin E2; *PKCα* Proteinkinase Cα; *$PLA_2$* Phospholipase $A_2$; *PMA* Phorbol-12-myristat-13-acetat; *SMase* Sphingomyelinase

Dahingegen wird die Eryptose durch Erythropoetin (Myssina et al. 2003), Harnstoff (Lang et al. 2004b), Katecholamine (Lang et al. 2005) und einige Ionenkanalblocker (Lang et al. 2003b; Myssina et al. 2004) gehemmt.

Bei der Wilson-Krankheit, einer Kupferspeicherkrankheit, geht die Eryptose mit dem apoptotischen Tod von Leberzellen einher. Dadurch entstehen die beiden Leitsymptome Leberzirrhose und Anämie. Detaillierte In-vitro-Studien zeigten, dass der Leberzelltod und der programmierte Erythrozytentod auf eine kupferinduzierte Aktivierung der sauren Sphingomyelinase zurückzuführen ist. Die Ergebnisse wurden in einem Tiermodell überprüft, und es

stellte sich heraus, dass durch Hemmung der sauren Sphingomyelinase die Entwicklung der Wilson-Krankheit, der akute Leberzelltod und die Leberzirrhose in vivo gestoppt werden konnten. Ebenso verhinderte die Hemmung der Sphingomyelinase die kupferinduzierte Phosphatidylserinexposition auf den Erythrozyten und damit die Aussortierung der betroffenen Erythrozyten aus dem Blut (Lang et al. 2007). Der stressinduzierte Erythrozytentod scheint jedoch nicht nur bei der Aussortierung geschädigter Zellen eine Rolle zu spielen. So wurde zum Beispiel gezeigt, dass $PGE_2$ die erythrozytären $Ca^{2+}$-Kanäle stimuliert und dass dieser Prozess in die Blutpfropfbildung involviert ist (Kaestner et al. 2004).

### 13.2.3 Seneszenz

Humane Erythrozyten weisen eine definierte mittlere Lebenszeit von 120 Tagen auf. Somit ist klar, dass die Alterung und Aussortierung dieser Zellen genau reguliert sein muss. Der Alterungsprozess der Erythrozyten (Seneszenz) wurde im Unterschied zum stressinduzierten Erythrozytentod schon seit längerer Zeit intensiv erforscht, und es bestehen einige sehr plausible, aufeinander aufbauende Theorien, nach welchen Mechanismen gealterte Erythrozyten aus der Peripherie entfernt werden:

- Nach der Theorie von Kay lagern sich körpereigene Immunglobuline (IgG) an alte Erythrozyten an, die daraufhin von Makrophagen phagozytiert werden (Kay 1975).
- Low und Kollegen konnten zeigen, dass in gealterten Erythrozyten das Hämoglobin anfängt zu denaturieren. Die hierbei gebildeten Hemichrome vernetzen den Cl-/HCO3-Austauscher (Bande-3-Protein) in der Plasmamembran zu Clustern. Dadurch werden Erkennungsstellen für Antikörper gegen seneszente Zellen geschaffen (Low et al. 1985).
- nach den Ergebnissen von Lutz und Mitarbeitern handelt es sich bei den Phagozytosesignalen für seneszente Zellen um oxidierte Strukturen des Cl-/HCO3-Austauschers, die von natürlich vorkommenden Anti-Bande-3-Antikörpern erkannt werden (Lutz et al. 1988).
- Neben diesen immunglobulingetriggerten Mechanismen besteht noch die Möglichkeit einer durch Phosphatidylserin gesteuerten Aussortierung gealterter Erythrozyten, wie sie für apoptotische Zellen schon länger bekannt ist (Fadok et al. 2000).

Unabhängig vom Mechanismus der »Erythrozyten-Clearance« besteht zwischen der Seneszenz und dem programmierten Erythrozytentod (Eryptose) ein entscheidender Unterschied: Während gestresste, Phosphatidylserin exponierende Erythrozyten innerhalb von 2 h nahezu vollständig aus dem peripheren Blut aussortiert werden (Abb. 13.2b, oberes Diagramm: mit Ionomycin behandelte Erythrozyten im Vergleich zu kontrollbehandelten Erythrozyten), geschieht die Eliminierung ungestresster, alternder Erythrozyten über einen Zeitraum von mehreren Tagen bzw. Wochen (Abb. 13.2b, unteres Diagramm). Zusammenfassend lässt sich also festhalten, dass es sich bei der Eryptose um einen akuten Vorgang zur Entfernung geschädigter Erythrozyten handelt, während die Seneszenzprogramme der Erythrozyten die mittlere Lebensdauer dieses hochspezialisierten Zelltyps festlegen.

## Literatur


Akel A, Hermle T, Niemoeller OM et al. (2006) Stimulation of erythrocyte phosphatidylserine exposure by chlorpromazine. Eur J Pharmacol 532: 11–17

Andrews DA, Yang L, Low PS (2002) Phorbol ester stimulates a protein kinase C-mediated agatoxin-TK-sensitive calcium permeability pathway in human red blood cells. Blood 100: 3392–3399

Barvitenko NN, Adragna NC, Weber RE (2005) Erythrocyte signal transduction pathways, their oxygenation dependence and functional significance. Cell Physiol Biochem 15: 1–18

Birka C, Lang PA, Kempe DS et al. (2004) Enhanced susceptibility to erythrocyte »apoptosis« following phosphate depletion. Pflugers Arch 448: 471–477

Brand VB, Sandu CD, Duranton C et al. (2003) Dependence of Plasmodium falciparum in vitro growth on the cation permeability of the human host erythrocyte. Cell Physiol Biochem 13: 347–356

Bratosin D, Estaquier J, Petit F et al. (2001) Programmed cell death in mature erythrocytes: a model for investigating death effector pathways operating in the absence of mitochondria. Cell Death Differ 8: 1143–1156

Eisele K, Lang PA, Kempe DS et al. (2006) Stimulation of erythrocyte phosphatidylserine exposure by mercury ions. Toxicol Appl Pharmacol 210: 116–122

Erslev A (1953) Humoral regulation of red cell production. Blood 8: 349–357

Fadok VA, Bratton DL, Rose DM et al. (2000) A receptor for phosphatidylserine-specific clearance of apoptotic cells. Nature 405: 85–90

Kaestner L, Tabellion W, Lipp P et al. (2004) Prostaglandin E2 activates channel-mediated calcium entry in human erythrocytes: an indication for a blood clot formation supporting process. Thromb Haemost 92: 1269–1272

Kay MM (1975) Mechanism of removal of senescent cells by human macrophages in situ. Proc Natl Acad Sci USA. 72: 3521–3525

Kempe DS, Lang PA, Eisele K et al. (2005) Stimulation of erythrocyte phosphatidylserine exposure by lead ions. Am J Physiol Cell Physiol 288: C396–C402

Kempe DS, Lang PA, Duranton C et al. (2006) Enhanced programmed cell death of iron-deficient erythrocytes. FASEB J 20: 368–370

Kempe DS, Akel A, Lang PA et al. (2007) Suicidal erythrocyte death in sepsis. J Mol Med 85: 269–277

Lang KS, Roll B, Myssina S et al. (2002) Enhanced erythrocyte apoptosis in sickle cell anemia, thalassemia and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Cell Physiol Biochem 12: 365–372

Lang KS, Duranton C, Poehlmann H et al. (2003a) Cation channels trigger apoptotic death of erythrocytes. Cell Death Differ 10: 249–256

Lang KS, Myssina S, Tanneur V et al. (2003b) Inhibition of erythrocyte cation channels and apoptosis by ethylisopropylamiloride. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 367: 391–396

Lang KS, Myssina S, Brand V et al. (2004a) Involvement of ceramide in hyperosmotic shock-induced death of erythrocytes. Cell Death Differ 11: 231–243

Lang KS, Myssina S, Lang PA et al. (2004b) Inhibition of erythrocyte phosphatidylserine exposure by urea and $Cl^-$. Am J Physiol Renal Physiol 286: F1046–F1053

Lang PA, Kempe DS, Akel A et al. (2005) Inhibition of erythrocyte »apoptosis« by catecholamines. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 372: 228–235

Lang F, Lang KS, Lang PA et al. (2006a) Mechanisms and significance of eryptosis. Antioxid Redox Signal 8: 1183–1192

Lang PA, Beringer O, Nicolay JP et al. (2006b) Suicidal death of erythrocytes in recurrent hemolytic uremic syndrome. J Mol Med 84: 378–388

Lang PA, Huober J, Bachmann C et al. (2006c) Stimulation of erythrocyte phosphatidylserine exposure by paclitaxel. Cell Physiol Biochem 18: 151–164

Lang PA, Schenck M, Nicolay JP et al. (2007) Liver cell death and anemia in Wilson´s disease involve acid sphingomyelinase and ceramide. Nat Med 13: 164–170

Lee-Huang S (1984) Cloning and expression of human erythropoietin cDNA in Escherichia coli. Proc Nat Acad Sci USA 81: 2708–2712

Low PS, Waugh SM, Zinke K et al. (1985) The role of hemoglobin denaturation and band 3 clustering in red blood cell aging. Science 227: 531–533

Lutz HU, Fasler S, Stammler P et al. (1988) Naturally occurring anti-band 3 antibodies and complement in phagocytosis of oxidatively-stressed and in clearance of senescent red cells. Blood Cells 14: 175–203

Myssina S, Huber SM, Birka C et al. (2003) Inhibition of erythrocyte cation channels by erythropoietin. J Am Soc Nephrol 14: 2750–2757

Myssina S, Lang PA, Kempe DS et al. (2004) $Cl^-$ channel blockers NPPB and niflumic acid blunt $Ca^{(2+)}$-induced erythrocyte 'apoptosis'. Cell Physiol Biochem 14: 241–248

Nicolay JP, Schneider J, Niemoeller OM et al. (2006) Stimulation of suicidal erythrocyte death by methylglyoxal. Cell Physiol Biochem 18: 223–232

Nicolay JP, Gatz S, Liebig G et al. (2007) Amyloid induced suicidal erythrocyte death. Cell Physiol Biochem 19: 175–184

Niemoeller OM, Akel A, Lang PA et al. (2006) Induction of eryptosis by cyclosporine. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 374: 41–49

Nunomura W, Takakuwa Y (2006) Regulation of protein 4.1R interactions with membrane proteins by $Ca^{2+}$ and calmodulin. Front Biosci 11: 1522–1539

Rivera A, Jarolim P, Brugnara C (2002) Modulation of Gardos channel activity by cytokines in sickle erythrocytes. Blood 99: 357–363

# Das plasmatische Gerinnungssystem

# 14 Regulation der plasmatischen Gerinnungskaskade

*K. T. Preissner*

## Einleitung

Das Prinzip der Komplexbildung und Konzentrierung von plasmatischen Gerinnungsfaktoren am Ort der Gefäßverletzung basiert auf ihrer kalziumabhängigen Bindung an prokoagulatorische Lipide der aktivierten Thrombozytenmembran. Durch die Vitamin-K-abhängige Karboxylierung in der Leber werden die plasmatischen Gerinnungsfaktoren VII, IX, X, II, Z sowie die antikoagulatorischen Proteine C und S funktionell für die lokal und zeitlich begrenzte Bindung und Komplexbildung am Ort des Gerinnungsgeschehens ausgerüstet.

Die durch die extrinsische Aktivierung erzeugten geringen Dosen an Thrombin (IIa) induzieren die Amplifizierung der Thrombinbildung über die intrinsische Gerinnungskaskade, wobei die Hauptmenge an gebildetem Thrombin über den Thrombomodulin-/Protein-C-Weg zur intrinsischen Kontrolle der Blutgerinnung notwendig ist. Eine wirksame Regulation dieser Proteasen wird über die natürlichen Inhibitoren erreicht, v. a. durch Antithrombin, welches durch den Einsatz verschiedener Typen von (therapeutischen) Heparinoiden in seiner Wirksamkeit verstärkt wird.

Die löslichen Vitamin-K-abhängigen Enzyme induzieren v. a. über spezifische »proteaseaktivierbare Rezeptoren« zellstimulierende Prozesse im Rahmen der Embryogenese und Wundheilung, aber auch bei Gefäßdegeneration und Sepsis, sodass den Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren ein viel größeres Wirkungsspektrum im Organismus zukommt, als dies ihre klassische Rolle in der Blutgerinnung vermuten lässt.

## 14.1 Reaktionen in der primären Phase der Hämostase

Nach einer Gefäßläsion mit dem Wegfall der nichtthrombogenen Endothelbarriere sind kollagenöse Basalmembranstrukturen und assoziierte Adhäsivproteine, an die zirkulierende Thrombozyten über verschiedene Klassen von Adhäsivrezeptoren anhaften, Auslöser der Hämostase. Gerade unter den Bedingungen des strömenden Blutes, verbunden mit den an der (verletzten) Gefäßwand wirkenden Scherkräften, erfolgt die initiale Rekrutierung der Thrombozyten an subendothelialen, polymeren Von-Willebrand-Faktor (vWF), der über den thrombozytären Glykoprotein-(GP-)Ib-IX-V-Komplex (vWF-Rezeptor) gebunden wird. Diese hochaffine Wechselwirkung ist von besonderer Bedeutung für die primäre Wundabdichtung; eine Verminderung oder ein Fehlen des vWF führt zu einer gesteigerten Blutungsneigung bei Patienten mit Von-Willebrand-Jürgens-Syndrom. Über Kollagenrezeptoren (GP VI und Integrin $\alpha_{II}\beta_1$) erfolgen die weitere Adhäsionsstabilisierung der Thrombozyten sowie ihre Aktivierung, verknüpft mit der Induktion intrazellulärer Signalkaskaden, die zu folgenden Thrombozytenreaktionen führen:

- Sezernierung makromolekularer Komponenten (z. B. Adhäsionsproteine, Wachstumsfaktoren) und niedermolekularen Aktivatoren (z. B. Adenosindiphosphat, Serotonin, Thromboxan $A_2$) aus intrazellulären Speichergranula, was zur Verstärkung der Thrombozytenaktivierung führt;
- Aktivierung von Membranrezeptoren wie dem $\alpha_{IIb}\beta_3$-Integrin (Fibrinogenrezeptor), was zur Aggregation von Thrombozyten über Fibrinogenbrücken führt und verbunden ist mit
- Formveränderungen und Ausbreitung/Umorientierung der gesamten Thrombozytenmembranoberfläche unter Nutzung des offenen kanalikulären Membransystems.

Aktivierte Thrombozyten induzieren damit einen durch die Enzyme Floppase/Scramblase katalysierten, ATP-abhängigen Plasmamembran-Flipflop, der negativ geladene Phospholipide (Phosphatidylserin, Phosphatidylinositol) an die Membranaußenseite bringt, wo sie Kalziumionen effektiv binden können. Diese »gerinnungsaktive« Oberfläche ist Grundlage für die Konzentrierung von kalziumbindenden Gerinnungsproteinen (den Vitamin-K-abhängigen Faktoren) an der durch ausgebreitete adhärente und aggregierte Thrombozyten temporär abgedichteten Verletzungsstelle, auf der die Blutgerinnungsaktivierung und Fibrinbildung lokal und zeitlich begrenzt ablaufen kann.

## 14.2 Aktivierung, Propagierung und Kontrolle der Blutgerinnung

### 14.2.1 Aktivierung

Gleichzeitig mit der Bindung der aus der Zirkulation rekrutierten Vitamin K-abhängigen Gerinnungsfaktoren an die Verletzungsstelle tritt der in tieferen Zellschichten der Gefäßwand exprimierte Tissue Factor (TF) als Faktor-VII/VIIa-Rezeptor und initialer Kofaktor zur Auslösung des extrinsischen Reaktionsweges in Erscheinung. Gebunden an die »gerinnungsaktiven« Phospholipide, bildet sich der Multikomponenten-Starterkomplex (VIIa: Enzym; TF: Kofaktor; X: Substrat; Abb. 14.1): Die Vitamin-K-abhängigen Enzyme und Substrate (Proenzyme) binden über Kalziumbrücken mit ihren Gla-Domänen an die negativ geladene Membran der aktivierten Thrombozyten. Sie werden durch einen für jeden Komplex charakteristischen nichtenzymatischen Kofaktor fixiert, der die Effektivität der jeweiligen Reaktion wesentlich erhöht. Ohne Kofaktor (z. B. bei Faktor-VIII-Mangel/Hämophilie A) kommt es zu keiner effektiven Umsetzung des Substrates (Faktor X) durch das Enzym (Faktor IXa).

Das Produkt dieser Reaktion, Faktor Xa, kann – gebunden an den Kofaktor Faktor Va und das Substrat Prothrombin – im Prothrombinasekomplex initiale Mengen von Thrombin (Faktor IIa) generieren.

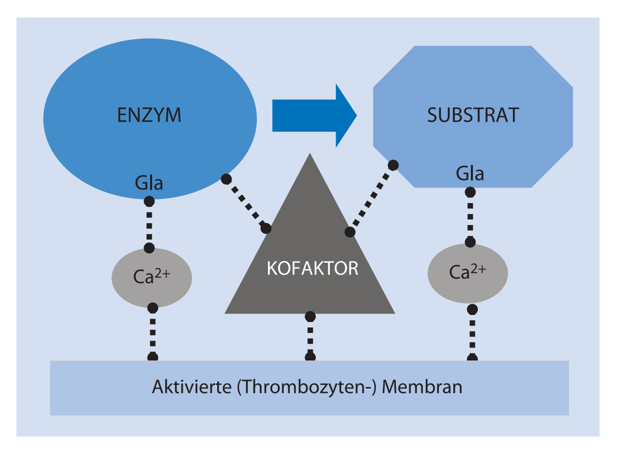



**Abb. 14.1.** Schematischer Aufbau eines Multikomponenten-Enzymkomplexes der Blutgerinnung

### 14.2.2 Propagierung

Die in dieser »Starterreaktion« gebildeten geringen Dosen von Thrombin reichen nicht für eine erschöpfende Fibrinbildung aus, können aber weitere Thrombozyten aktivieren und werden zur direkten Aktivierung der Faktoren XI, VIII und V genutzt, um die Stimulation und Verstärkung des »intrinsischen« Reaktionsweges zu initiieren.

Durch die auf jeder Stufe der Kaskade gebildeten Multikomponenten-Enzymkomplexe (Abb. 14.1; Tab. 14.1) kommt es zu einer außerordentlichen Verstärkung der Thrombinbildung, sodass nach kurzer Zeit ausreichende Dosen des Schlüsselenzyms für die Fibrinbildung und -polymerisation sowie für die Aktivierung des Faktors XIII (kovalente Fibrinstabilisierung durch Isopeptidbindungen zwischen benachbarten Fibrinmolekülen) zur Verfügung stehen. Der Mangel an einem Vitamin-K-abhängigen Protein (z. B. Faktor IX) oder seine Dysfunktion (fehlende γ-Karboxylierung) führt zur drastischen Absenkung der Reaktionsgeschwindigkeit bzw. zur Blockierung der Reaktionen der Gerinnungskaskade, verbunden mit Blutungskomplikationen.

**Tab. 14.1.** Multikomponenten-Enzymkomplexe der Blutgerinnung und Fibrinolyse

| Funktion (Komplex) | Enzym | Substrat, Proenzym | Kofaktor |
|---|---|---|---|
| Faktor-IXa-Generierung (intrinsisch) | XIa | IX* | Hochmolekulares Kininogen |
| Faktor-IXa-Generierung (extrinsisch) | VIIa* | IX* | Tissue Factor |
| Faktor-Xa-Generierung (intrinsische Tenase) | IXa* | X* | VIIIa |
| Faktor-Xa-Generierung (extrinsische Tenase) | VIIa* | X* | Tissue Factor |
| Thrombingenerierung (Prothrombinase) | Xa* | II (Prothrombin)* | Va |
| Protein-C-Aktivierung | IIa (Thrombin)* | Protein C* | Thrombomodulin/endothelialer Protein-C-Rezeptor |
| Faktor-Va/VIIIa-Inaktivierung | Protein Ca* | Va/VIIIa | Protein S* |
| Plasmingenerierung | t-PA | Plasminogen | Fibrin |

* Vitamin-K-abhängige Faktoren

### 14.2.3 Antikoagulatorische Kontrolle

Die Initiierung des Gerinnungsgeschehens, ausgelöst durch extravasalen oder mit Mikropartikeln und aktivierten Thrombozyten assoziierten »zirkulierenden« TF (Engelmann et al. 2003), wird in stöchiometrischer Weise durch gefäßwandständigen, glykolipidverankerten bzw. mit Lipoproteinen assoziierten Tissue Factor Pathway Inhibitor (TFPI) kontrolliert (Crawley u. Lane 2008). Der aus 3 Kunitz-Domänen bestehende TFPI blockiert die enzymatische Aktivität im Starterkomplex, indem er mit Faktor Xa einen binären und mit TF und Faktor VIIa einen quaternären Komplex bildet, der mittels Endozytose z. B. durch Monozyten eliminiert werden kann (Ahamed et al. 2005). Mit seiner dritten Kunitz-Domäne bindet TFPI an Protein S, welches die Inhibitorwirkung in der Initialphase des TF-abhängigen extrinsischen Reaktionsweges verstärkt (Hackeng et al. 2006; ► Kap. 15.2). Schließlich stellt das Protein-Z/ZPI-System einen weiteren, v. a. auf freien Faktor Xa ausgerichteten Kontrollmechanismus in der initialen Blutgerinnungsphase dar (Corral et al. 2007).

Im Gegensatz zu allen anderen Gerinnungsenzymen bleibt Thrombin nach seiner Generierung aus dem Prothrombin nicht mehr über die Gla-Domäne des Prothrombinfragments an der aktivierten Thrombozytenmembran gebunden, sodass die Hauptmenge des Enzyms (>95%) von der Verletzungsstelle weg diffundiert und die antikoagulatorische Feedback-Kontrolle einleiten kann. Dabei ändert Thrombin, gebunden an den endothelialen Rezeptor Thrombomodulin (◘ Tab. 14.1), seine Substratspezifität, verliert dabei seine gerinnungsfördernden Funktionen und katalysiert die Aktivierung des antikoagulatorischen Protein C (Esmon 2003). Aktivertes Protein C (APC) zusammen mit seinem Kofaktor Protein S degradiert am Verletzungsort die prokoagulatorischen Kofaktoren Va und VIIIa, sodass die Thrombinbildung irreversibel unterbrochen wird. Ein weiterer, v. a. auf dem Endothel größerer Gefäße konstitutiv exprimierter und durch Thrombin hochregulierbarer endothelialer Protein-C-Rezeptor (EPCR; Esmon 2006) erhöht die antikoagulatorische Wirkung des Thrombin-Thrombomodulin-Systems.



### 14.2.4 Serinproteaseinhibitoren

Eine weitere endogene Kontrolle des Thrombins und anderer Gerinnungsenzyme erfolgt über zirkulierende Serinproteaseinhibitoren wie Antithrombin, Protein-C-Inhibitor, Heparinkofaktor II, Proteasenexin-1 oder α1-Proteaseinhibitor (Rau et al. 2007). Im Vergleich zu den Zielproteasen zirkulieren diese Inhibitoren in viel höheren Konzentrationen im Plasma (im Bereich der $K_D$ der Inhibitorreaktion), um in langsam progressiver Weise durch kovalente Komplexbildung die Gerinnungsenzyme zu inaktivieren und ihre anschließende Klärung aus der Zirkulation zu induzieren.

Die Konzentration der Thrombin-Antithrombin-Komplexe im Plasma ist ein Maß für das im Gerinnungsgeschehen entstandene Thrombin. Die Geschwindigkeit der Faktor-Xa- und Thrombininhibierung durch Antithrombin wird nicht nur physiologisch durch Heparansulfatproteoglykane auf dem intakten, nicht thrombogenen Gefäßendothel beschleunigt (de Agostini et al. 1990; Preissner 1990). Vielmehr katalysieren natürliche und synthetische Heparinoide die Inaktivierung der genannten Proteasen, wobei in der präventiven Antikoagulation bzw. Thrombosetherapie von Risikopatienten neben dem unfraktionierten Heparin den niedermolekularen Heparinen und dem Pentasaccharid besondere Bedeutung als indirekte Faktor-Xa-Inhibitoren zukommt (Harenberg u. Wehling 2008). Eine hohe therapeutische Selektivität wird durch die (z. T. oral verfügbaren) niedermolekularen direkten Thrombin-, Faktor-Xa- und Faktor-IXa-Inhibitoren mit Antiproteasewirkung erzielt (Bauer 2008), von denen die RNA- und DNA-Aptamere eine neue Substanzklasse darstellen (Becker et al. 2005).

### 14.2.5 Proteaseaktivierbare Rezeptoren

Neben den schon angeführten Rezeptoren TF für Faktor VII/VIIa, Thrombomodulin für Thrombin und EPCR für Protein C/APC sowie den strukturell unabhängigen Rezeptoren für Faktor X und Protein S sind eine Subgruppe der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren für Vitamin-K-abhängige Proteasen wie Thrombin, Faktor Xa oder APC bekannt (◘ Tab. 14.2), die zelluläre Wirkungen dieser Moleküle vermitteln.

Diese Subfamilie der proteaseaktivierbaren Rezeptoren (PAR-1–PAR-4) sind membranständige Substrate und werden durch ihre Proteaseliganden mittels limitierter Proteolyse aktiviert, um dann eine zelluläre Signaltransduktion in vielfältiger, zellspezifischer Weise zu vermitteln (Coughlin 2005; Ruf et al. 2003). Dabei wirkt der nach Abspaltung eines aminoterminalen Peptides entstandene neue Aminoterminus des aktivierten PAR als eigentlicher »angeleinter« Agonist und induziert zelluläre Signale. So ist die thrombinmediierte PAR-Signaltransduktion in Thrombozyten essenziell für die Hämostase, und PAR-abhängige Zellstimulation auf vaskulären und anderen Körperzellen ist verantwortlich u. a. für Proliferations- und Entzündungsprozesse (Traynelis u. Trejo 2007). Umgekehrt vermittelt APC eine antiinflammatorische Wirkung über endotheliale PAR (Ruf et al. 2003), die als physiologische Protektion und möglicherweise als therapeutische Anwendung bei Sepsis von Bedeutung ist.

**Tab. 14.2.** Rezeptoren von Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsproteinen

| Protease | Rezeptor (Expression, Zelltyp) | Funktion |
|---|---|---|
| APC | Protein S/Phospholipide (vaskuläre Zellen) | Faktor VIIIa/Va Inaktivierung |
| Faktor VII/VIIa | Tissue Factor (Monozyten, Thrombozyten) | Initiierung der Blutgerinnung, Angiogenese |
| Faktor X | $\alpha_M\beta_2$-Integrin/Mac-1 (Monozyten), HSV gC (Endothel) | Tissue-Factor-unabhängige Faktor-Xa-Bildung |
| Faktor Xa | Faktor Va/Phospholipide (vaskuläre Zellen) | Thrombinbildung |
| | PAR-2 (Endothel), Annexin II als Kofaktor | Zellaktivierung |
| Protein C/APC | EPCR (Endothel) | Antiinflammatorischer Mediator |
| Protein S | Tyro3, Annexin II (vaskuläre Zellen) | Zellproliferation |
| Thrombin | PAR-1, PAR-3 (vaskuläre und andere Zellen) | Zellaktivierung, Zellproliferation, Thrombozytenaktivierung |
| | Thrombomodulin (v. a. Endothel) | Antikoagulatorisches Protein-C-Feedback, Antiangiogenese (?) |

*HSV* Herpes-simplex-Virus; *cG* Glykoprotein C; *PAR* Proteaseaktivierbare Rezeptoren

## Literatur


Ahamed J, Belting M, Ruf W (2005) Regulation of tissue factor-induced signaling by endogenous and recombinant tissue factor pathway inhibitor 1. Blood 105: 2384–2391

Bauer KA (2008) New anticoagulants.Curr Opin Hematol 15: 509–515

Becker RC, Rusconi C, Sullenger B (2005) Nucleic acid aptamers in therapeutic anticoagulation. Technology, development and clinical application. Thromb Haemost 93: 1014–1020

Coughlin SR (2005) Protease activated receptors in hemostasis, thrombosis and vascular biology. J Thromb Haemost 3: 1800–1814

Corral J, González-Conejero R, Hernández-Espinosa D et al. (2007) Protein Z/Z-dependent protease inhibitor (PZ/ZPI) anticoagulant system and thrombosis. Br J Haematol 137: 99–108

Crawley JT, Lane DA (2008) The haemostatic role of tissue factor pathway inhibitor. Arterioscler Thromb Vasc Biol 28: 233–242

de Agostini AI, Watkins SC, Slayter HS (1990) Localization of anticoagulantly active heparan sulfate proteoglycans in vascular endothelium: antithrombin binding on cultured endothelial cells and perfused rat aorta. J Cell Biol 111: 1293–1304

Engelmann B, Luther T, Müller I (2003) Intravascular tissue factor pathway: A model for rapid initiation of coagulation within the blood vessel. Thromb Haemost 89: 3–8

Esmon CT (2003) The protein C pathway. Chest 124(Suppl3): 26S–32S

Esmon CT (2006) The endothelial protein C receptor. Curr Opin Hematol 13: 382–385

Hackeng TM, Seré KM, Tans G (2006) Protein S stimulates inhibition of the tissue factor pathway by tissue factor pathway inhibitor. Proc Natl Acad Sci USA 103: 3106–3111

Harenberg J, Wehling M (2008) Current and future prospects for anticoagulant therapy: inhibitors of factor Xa and factor IIa. Semin Thromb Hemost 34: 39–57

Preissner KT (1990) Physiological role of vessel wall related antithrombotic mechanisms: contribution of endogenous and exogenous heparin-like components to the anticoagulant potential of the endothelium. Haemostasis 20(Suppl1): 30–49

Rau JC, Beaulieu LM, Huntington JA (2007) Serpins in thrombosis, hemostasis and fibrinolysis. J Thromb Haemost 5(Suppl1): 102–115

Ruf W, Dorfleutner A, Riewald M (2003) Specificity of coagulation factor signaling. J Thromb Haemost 1: 1495–1503

Traynelis SF, Trejo J (2007) Protease-activated receptor signaling: new roles and regulatory mechanisms. Curr Opin Hematol 14: 230–235

# 15 Tissue Factor Pathway

## 15.1 Tissue Factor (TF)

*I. Ott*



### Einleitung

Tissue Factor (TF) oder Gewebethromboplastin ist der Hauptinitiator der Gerinnungskaskade. Obwohl dies bereits seit über 100 Jahren bekannt ist, wurde die Komplexität der Zellbiologie von TF erst in den letzten 20 Jahren erkannt. Im Jahre 1985 wurde erstmalig der Proteinanteil isoliert, im Jahre 1987 dann die »complementary DNA« (cDNA) von TF kloniert. TF ist ein transmembranes Glykoprotein, das als zellulärer Rezeptor und enzymatischer Kofaktor für Faktor VIIa (FVIIa) dient. TF und FVIIa bilden einen Komplex, der das eigentliche Enzym darstellt und die Proteinsubstrate FIX und FX aktiviert. Darüber hinaus besitzt TF nichthämostatische Funktionen bei Entzündungsprozessen, Tumormetastasierung und Angiogenese.

### 15.1.1 Molekülstruktur und Biochemie

#### Das TF-Gen

Das TF-Gen ist auf Chromosom 1, p21-22 kodiert und wurde 1987 unabhängig von 4 verschiedenen Gruppen kloniert (Fisher et al. 1987; Morrissey et al. 1987; Scarpati et al. 1987; Spicer et al. 1987). Die kodierende Sequenz ist durch 5 Intronsequenzen unterbrochen. Der Transkriptionsbeginn folgt 25 bp nach einer typischen TATA-Sequenz und befindet sich 12 bp oberhalb vom Initiationskodon. Durch Prozessierungen der TF-mRNA (Tissue-Factor-Messenger-RNA) entstehen unterschiedlich lange Transkripte. Das häufigste umfasst eine Länge von 2,1–2,3 kbp, es entstehen jedoch auch größere Formen durch inkomplette Prozessierung verschiedener Introns (Brand et al. 1991; van der Logt et al. 1992).



Exon 1 kodiert für die Signalsequenz und die 1. Aminosäure des vollständig prozessierten TF. Die kodierende Sequenz für die extrazelluläre Domäne umfasst die Exons 2–5. Die Grenze zwischen Exon 3 und 4 stellt den Übergang zwischen den beiden extrazellulären Proteinmodulen dar. Exon 6 kodiert für die transmembrane und zytoplasmatische Domäne und für die 1.145 bp der nichttranslatierten mRNA-Sequenz (Abb. 15.1). Die Gene von Mensch und Maus sind beide auf dem Chromosom 1 lokalisiert. Sie weisen eine hohe Sequenzhomologie zueinander auf, besonders im kodierenden Bereich, was ein Hinweis für den starken evolutionären Druck für die Aufrechterhaltung spezifischer Funktionen von TF ist.

Insgesamt wurden bisher zahlreiche Einzelnukleotidpolymorphismen beschrieben, 1 Polymorphismus für die Restriktionsenzyme MspI und PstI sowie 1 Polymorphismus mit einem Austausch von Valin 228 zu Alanin. Eine funktionelle Bedeutung wurde bisher nur für die -1208D/I-, -1812C/T- und 5466AG-Polymorphismen gezeigt. In klinischen Studien war der 5466AG-Polymorphismus mit einer erhöhten Mortalität bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom assoziiert. Der CG-Haplotyp der Polymorphismen -1812CT und 5466AG war sogar mit einem 3-fach erhöhten Mortalitätsrisko dieser Patienten verbunden (Malarstig et al. 2005). Bei der venösen Thrombose scheinen diese Polymorphismen nicht von Bedeutung zu sein (Smith et al. 2007).

Die Regulation des TF-Gens ist komplex. TF wird in vivo konstitutiv in extravaskulären Geweben exprimiert (Adventitia, Lunge, Herz, Plazenta, Gehirn, Haut, Niere, Hoden) sowie in vaskulären Zellen (Monozyten, Endothelzellen und glatten Muskelzellen), wo TF durch Zytokine, Wachstumsfaktoren und C-reaktives Protein (CRP) induziert wird. Dabei entspricht die zelluläre Verteilung einer hämostatischen Hülle, die eine schnelle Gerinnungsaktiverung nach vaskulärer Verletzung ermöglicht. Der TF-Promotor enthält 2 AP-1-Bindungsstellen, eine NF-κB-Bindungsstelle und 3 überlappende Sp1- und Egr-1-Bindungsstellen. Die Regulation der Expression von TF durch die einzelnen Transkriptionsfaktoren hängt wesentlich vom Stimulus und vom Zelltyp ab. So wird die endotoxininduzierte Expression von TF durch die gleichzeitige Bindung von Fos/Jun-Heterodimeren an die AP-1-Motive und von c-Rel/p65 an die NF-κB-Bindungsstelle reguliert. Dagegen ist die durch Serumfaktoren induzierte Expression von TF durch Interaktionen an den EGR-1/Sp-1-Bindungsstellen in der proximalen Promotorregion reguliert (Mackman 1995). Diese Region ist auch für die konstitutive Expression von TF in Tumorzellen von Bedeutung.

Bisher wurden mehrere Varianten durch alternatives Spleißen beschrieben. Durch Spleißen des Exons 5 wird das C-terminale Ende von TF verändert und als TF gebildet, bei dem die Reste 1–166 identisch mit TF sind, während Reste 167–206 sich voneinander unterscheiden (Bogdanov et al. 2003). Weiterhin wurde ein neues Exon IA beschrieben, das

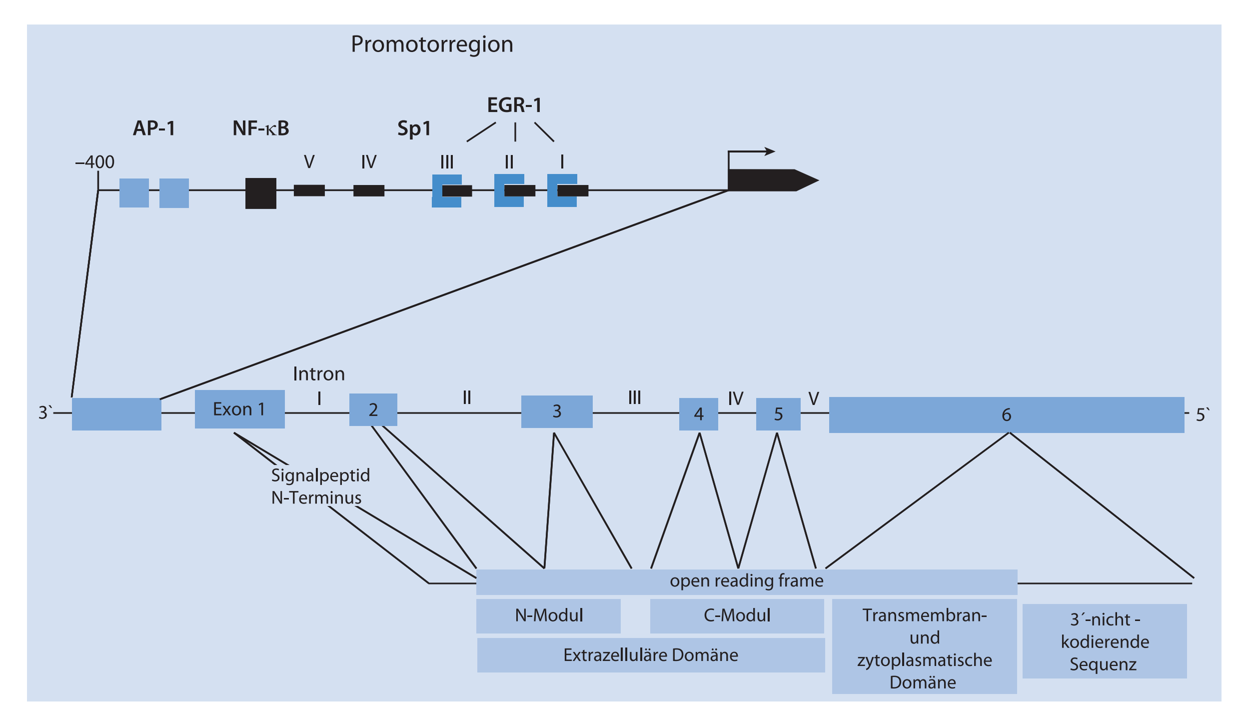



**Abb. 15.1.** Schematische Darstellung des TF-Genlocus. Die Bindungsstellen für die Transkriptionsfaktoren AP-1, NF-κB, Sp1 und EGR-1 sind schematisch dargestellt. *N-Modul* aminoterminales Modul; *C-Modul* carboxyterminales Modul

vermehrt in Tumorzellen exprimiert wird (Chand et al. 2006). Die biologische Bedeutung dieser Varianten ist bislang unklar. Rekombinanter löslicher TF ohne transmembrane Domäne, welcher einer alternativ gespleißten Form entspricht (asTF), der in E. coli hergestellt wurde, besitzt prokoagulatorische Aktivität (Bogdanov et al. 2003), während überraschenderweise in HEK-Zellen gebildeter asTF inaktiv war (Censarek et al. 2007).

TF ist der einzige Gerinnungsfaktor, für den keine angeborene Gerinnungsstörung bekannt ist.

## Das TF-Protein: Struktur und Funktion

Das primäre Translationsprodukt besteht aus 295 Aminosäuren von denen 32 Peptide die Signalsequenz bilden. Die extrazelluläre Domäne des Proteins umfasst 219, die transmembrane Domäne 23 und die zytoplasmatische Domäne nur 21 Aminosäurereste. Die 4 Cysteinreste in der extrazellulären Domäne bilden 2 Disulfidbrücken. Die Cysteinreste der zytoplasmatischen Domäne sind wahrscheinlich über Thioesterbindungen an Palmetylat und N-Oktadekanat gebunden. Dadurch wird eine zusätzliche Membranverankerung geschaffen (Bach et al. 1988).

TF besitzt die Struktur eines Klasse-II-Zytokinrezeptors, zu dem auch der Interferon-γ-Rezeptor gehört (Bazan 1990). Diese Rezeptoren bestehen aus 2 Domänen mit antiparallelen ß-Strängen mit einer immunglobulinähnlichen Struktur. Die Aminosäuren der Extrazellulärdomäne von TF falten sich in 2 Struktureinheiten mit einer Topologie, die dem Fibronektin (Typ-III-Domäne) ähnelt. Diese Proteinbausteine sind den Immunglobulindomänen ähnlich und bestehen aus antiparallen ß-Faltblattstrukturen mit 3 und 4 Strängen. Die TF-Struktur hat mehrere kurze Abschnitte von α-Helices, insbesondere zwischen den beiden Modulen, was einen Unterschied zu den Klasse-II-Zytokinrezeptoren darstellt. Die Disulfidbrücke im carboxyterminalen Modul von TF befindet sich nicht im hydrophoben Zentrum, wie bei Immunglobulinstrukturen, sondern an der Oberfläche, was eine hydrophobe Bindungsstelle schafft (Harlos et al. 1994; Muller et al. 1996).

Die beiden Module des TF sind durch eine hydrophobe Grenzfläche in einem Winkel von 125° fixiert, was für die Bindung von FVIIa wichtig ist. Eine N-Glykosylierung von TF erfolgt an verschiedenen Asparaginresten in der extrazellulären Domäne (Asn111, Asn124 und Asn137). Die komplexen Zuckerreste tragen erheblich zur relativen Molekularmasse von 47.000 bei einem Proteinanteil von nur 30.000 bei. Dabei besteht eine spezies- und gewebsspezifische Glykosylierung. Die TF-Glykosylierung steigert die Stabilität von TF und spielt eine bedeutende Rolle beim Transport und der Inkorporation in die Zellmembran (Pitlick 1975; Nemerson u. Bach 1982; van den Besselaar u. Bertina et al. 1984; Wolberg et al. 1999). Die prokoagulatorische Aktivität von TF hängt entscheidend von der Inkorporation in die Plasmamembran und von der Interaktion mit Phospholipiden

ab, was für die Bindung mit FVII/FVIIa notwendig ist. Weiterhin bilden Cysteinreste der extrazellulären Domäne 2 Disulfidbrücken aus (Cys49-Cys57 und Cys186-Cys209) (Bach et al. 1988). Dabei ist die letztere Disulfidbrücke für die TF-Aktivität notwendig (Rehemtulla et al. 1991).

Die zytoplasmatische Domäne von TF besteht aus einem kurzen Peptidrest mit 21 Aminosäuren. Sie enthält 2 mögliche Phosphorylierungsstellen. Ser253 befindet sich in einer Konsensus-Phosphorylierungsstelle für die Proteinkinase C (Zioncheck et al. 1992) und Ser258 wird von einer prolingerichteten Kinase erkannt (Mody u. Carson 1997). Eine Phosphorylierung des Ser253-Restes durch die Proteinkinase C (PKC) steigert auch die Phosphorylierung an Ser258 (Dorfleutner u. Ruf 2003). Untersuchungen mit PKC-Aktivatoren und -Inhibitoren zeigten, dass die PKC-abhängige Phosphorylierung die prokoagulatorische Aktivität von TF steigert.

Weiterhin spielen Phosphorylierungsprozesse der zytoplasmatischen Domäne von TF eine Bedeutung bei Zellmigration, Tumormetastasierung und Signaltransduktionsprozessen. Diese sind unabhängig von der extrazellulären und der transmembranen Domäne. Die Phosphorylierung der zytoplasmatischen Domäne ist notwendig für die Interaktion der zytoplasmatischen Domäne von TF mit dem aktinbindenden Protein 280, für Zellmigration und -ausbreitung (Ott et al. 1998; Ott 2005a; Ott 2005b). Die Expression von TF-Mutanten in Melanomzelllinien, bei denen Ser253 und Ser258 mit Alaninresten ausgetauscht wurden, reduzierte die Metastasierungsrate dieser Zelllinien in vivo (Bromberg et al. 1999).

Darüber hinaus besteht eine Interaktion mit dem proteaseaktivierten Rezeptor-2 (PAR-2), wodurch nach Stimulation mit dem TF-FVIIa-FXa-Komplex eine Phosphorylierung der zytoplasmatischen Domäne von TF induziert wird. Dieser negative Rückkopplungsmechanismus hemmt die durch PAR-2 vermittelte Angiogenese und steigert die TF-Expression (Ahamed u. Ruf 2004; Belting et al. 2004). Interessanterweise wurde diese Phosphorylierung nur durch TF/FVIIa und nicht durch andere Liganden von PAR-2 induziert (Mandal et al. 2007). Die Phosphorylierung der zytoplasmatischen Domäne von TF steigert die prokoagulatorische Aktivität und Zellmotilität und wird beeinflusst durch die Signaltransduktion durch PAR-2.

Bei der Palmthioesterbindung (S-Palmitoylierung) wird zwischen Palmitinsäure und Cystein durch S-Azylierung Palmitat gebildet. Alternativ kann Palmitat nach intermediärer Thioesterbindung an den N-terminalen Cysteinresten eine stabile Amidbindung ausbilden (N-Palmitoylierung). Diese Vorgänge regulieren den Proteinaustausch zwischen Organellen und den Zusammenschluss in Membrankompartimenten. Die kovalente Bindung von Fettsäuren an die Aminosäuren der transmembranen Region trägt zusätzlich zur Membranverankerung bei.

Auch intrazelluläres Cys245 wird durch Palmitinsäure acetyliert. Dadurch wird TF in spezifischen Membrandomänen, den Lipid Rafts, lokalisiert und die prokoagulatorische Aktivität vermindert (Bach et al. 1988; Dorfleutner u. Ruf 2003). Strukturanalysen ergaben Hinweise auf eine mögliche sterische Behinderung bei der Substraterkennung durch Proteinkinasen nach Palmitoylierung der zytoplasmatischen Domäne von TF (Zioncheck et al. 1992). Mit einem gegen phosphoryliertes Ser258 gerichteten Antikörper gelang es zu zeigen, dass nach Mutation von Cys245 eine gesteigerte Phosphorylierung von Ser258 beobachtet wird (Dorfleutner u. Ruf 2003). Darüber hinaus war diese Phosphorylierung in konfluenten Endothelzellen reduziert, was ebenso bei Steigerung der TF-Oberflächenexpression beobachtet wurde.

Palmitoylierung begünstigt die Lokalisierung von TF in caveolinreiche Membranareale (Lipid Rafts). Das hemmt einerseits die Phosphorylierung der zytoplasmatischen Domäne von TF (Oka et al. 1997) und andererseits die prokoagulatorische Aktivität (Dietzen et al. 2004). TF-Palmitoylierung beeinflusst also die funktionelle TF-Aktivität durch Regulation der Phosphorylierung der zytoplasmatischen Domäne und durch Lokalisation von TF in spezifische caveolinreiche Membranareale.

Obwohl ein Großteil des posttranslational modifizierten TF, der die Zelloberfläche erreicht, an der Initiierung der Gerinnungskaskade oder an Signaltransduktionsprozessen teilnimmt, sind weitere Modifikationen notwendig, um die volle prokoagulatorische Aktivität des TF-FVIIa-Komplexes zu entfalten. In Bezug auf die Aktivierung von FIX und FX besitzt dieser Komplex im Gegensatz zu niedermolekularen Substraten keine volle Aktivität (»encryption«). Unter Laborbedingungen ist es möglich, die volle TF-Aktivität zu untersuchen (»decryption«). Dies erfolgt durch Kalziumzugabe, enzymatische Behandlung, Einfrieren und Auftauen, Ultraschall, Induktion von Apoptose oder Zugabe von Proteindisulfidisomerase (Carson 1996; Wolberg et al. 1999; Bach 2006; ◘ Abb. 15.2).

Die Steigerung der prokoagulatorischen Aktivität wird durch eine Steigerung der intrazellulären Kalziumkonzentrationen verursacht. Dabei wird durch Hemmung spezifischer Enzyme die Phosphatidylserinasymmetrie verringert und eine Umverteilung von TF aus Lipid Rafts auf die gesamte Zelloberfläche induziert (◘ Abb. 15.2a).

Das Phänomen der »encryption« ist mit Exposition von Phosphatidylserinresten auf die Zelloberfläche, Akkumulation von TF in Caveolae und Homodimerisierung von TF assoziiert (Ruf et al. 1991; Dietzen et al. 2004; Bach 2006) (◘ Abb. 15.2a). Der vermehrte Gehalt an Phosphatidylserin in der Membran induziert Veränderungen in der Quartiärstruktur des TF-FVIIa-Komplexes und wird als zugrunde liegender Mechanismus für die gesteigerte prokoagulatorische Aktivität diskutiert (Bach 2006).

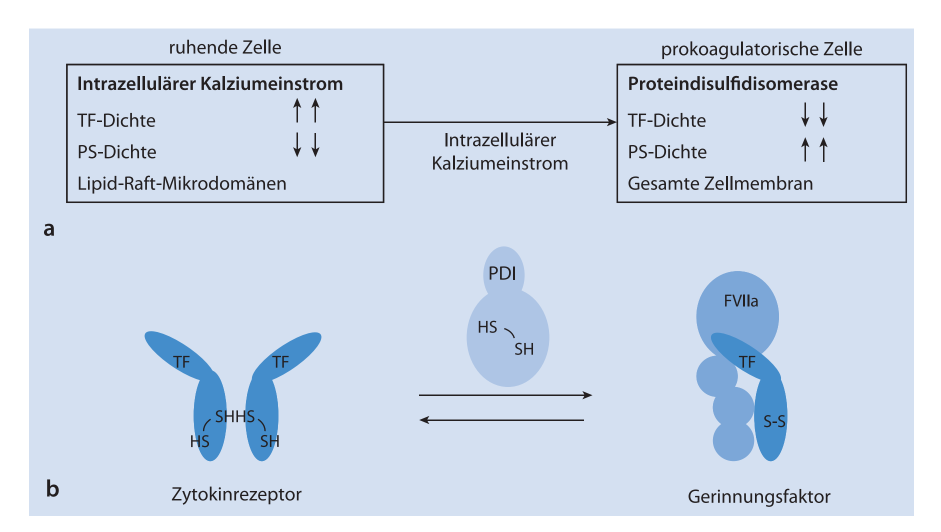



**Abb. 15.2a,b.** »Decryption/encryption« der TF-Aktivität auf der Zelloberfläche durch intrazellulären Kalziumeinstrom **(a)** und Proteindisulfidisomerase **(b)**. H Wasserstoff; *S* Schwefel; *PDI* Proteindisulfidisomerase; *PS* Phosphatidylserin; *TF* Tissue Factor

**Tab. 15.1.** Regulation der TF-Aktivität durch posttranslationale Modifikationen

| Modifizierung | Aminosäurerest | Funktion |
|---|---|---|
| Glykosylierung | Asn111 | TF-Transport und Membraninkorporation |
| | Asn124 | Schutz vor Proteolyse |
| | Asn134 | Steigerung der TF-prokoagulatorischen Aktivität |
| Phosphorylierung | Ser253 | TF-Transport/-Internalisierung/-Lokalisation |
| | Ser258 | TF-Degradation |
| Palmitolyierung | Cys245 | Lokalisierung in Lipid Rafts/Hemmung der TF-Phosphorylierung und TF-prokoagulatorischen Aktivität |
| Nitrosylierung | Cys49-Cys57 | Steigerung von PAR-2-vermittelter TF-Signaltransduktion |
| | Cys186-Cys209 | Hemmung der TF-prokoagulatorischen Aktivität |

*TF* Tissue Factor; *PAR* proteaseaktivierte Rezeptoren

Neuere Untersuchungen zeigen, dass eine Reduktion der allosterischen Disulfidbrücke Cys186-Cys209, die 2 extrazelluläre Immunglobulindomänen von TF verbindet und eine Verringerung der prokoagulatorischen Aktivität bewirkt (»decryption«). Dabei bleibt die Fähigkeit des TF-FVIIa-Komplexes zur Signaltransduktion erhalten (Ahamed et al. 2006; Chen et al. 2006). Dieses Modell schlägt vor, dass der Vorgang der »encryption/decryption« die Evolution des Gerinnungsfaktors TF aus dem Zytokinrezeptor widerspiegelt (Abb. 15.2b). Die Struktur des reduzierten Proteins ähnelt einem Zytokinrezeptor und besitzt keine proteolytische Aktivität. Nach Gewebeverletzung, Kalziumeinstrom oder anderen Stimuli erfolgt die Ausbildung von Disulfidbrücken, diese induziert eine Konformationsänderung, welche für die verbesserte Bindung von FVIIa an TF notwendig ist. Werden die Cysteinreste dieser Disulfidbrücke durch Serinreste substituiert, entsteht eine Mutante mit 20-fach geringerer Affinität für FVIIa. Diese Untersuchungen unterstreichen die Bedeutung dieser Disulfidbrücke für die prokoagulatorische Aktivität. Die Geschwindigkeit der Disulfidbrückenbildung wird durch eine Proteindisulfidisomerase bestimmt (Ahamed et al. 2006).

### 15.1.2 Physiologie

#### TF-Expression

Unter physiologischen Bedingungen exprimieren Zellen im zirkulierenden Blut oder in Kontakt mit dem Blutstrom keinen TF. Es wurde deswegen das Konzept von TF als hämostatische extravaskuläre Hülle entwickelt, die die Blutgefäße umschließt (Drake et al. 1989). Eine Verletzung der Gefäßwand aktiviert die Gerinnungskaskade durch Interaktion von TF mit Plasmaproteinen. Immunhistochemische Untersuchungen zeigten eine vermehrte Expression von TF in der Adventitia, aber auch in Fibroblasten, Fettzellen und Perizyten (Wilcox et al. 1989). In glatten Muskelzellen der Gefäßwand kann TF durch Wachstumsfaktoren induziert werden (Mulder et al. 1996). Normalerweise wird TF nicht in Endothelzellen exprimiert, kann jedoch in vitro durch verschiedene Stimuli (TNF-α, Lipopolysaccharide, Zytokine, Histamin) induziert werden (Mackman 1997). Obwohl gezeigt wurde, dass TF in Endothelzellen von Patienten mit Sichelzellanämie (Shet et al. 2003) und im experimentellen Sepsismodell (Lupu et al. 2005) exprimiert wird, ist die pathophysiologische Bedeutung in vivo bisher noch unklar. Nach Stimulation mit Lipopolysaccharid (LPS), Zytokinen oder Immunkomplexen wird TF in Monozyten in vitro und in vivo induziert. Dies ist eher als Antwort auf Entzündungsprozesse zu sehen und dient weniger dem Erhalt der vaskulären Integrität.

In ruhenden Thrombozyten wird keine reife TF-mRNA gefunden, jedoch zeigt sich nach Stimulation eine deutliche TF-mRNA-Expression. Dies beruht auf dem Vorliegen von TF-prä-mRNA, die bei Aktivierung der Thrombozyten in TF-mRNA gespleißt wird. Die Tatsache, dass TF-mRNA bei septischen Patienten in vivo nachgewiesen wurde, lässt eine pathophysiologische Relevanz der TF-Expression in Thrombozyten vermuten (Schwertz et al. 2006). Thrombozyten besitzen also die Fähigkeit, TF zu synthetisieren, speichern diesen in α-Granula und binden TF-positive Mikropartikel. Thrombozytärer TF könnte über diesen Mechanismus nicht nur zur Initiierung, sondern auch zur Amplifizierung der Gerinnungskaskade beitragen.

Neu synthetisierter TF befindet sich zu 75% intrazellulär im Golgi-Apparat und in Endosomen (Mandal et al. 2007). Dies stellt den hauptsächlichen Transportweg von TF an die Zelloberfläche dar und ermöglicht eine schnelle Steigerung der Oberflächenexpression nach Bindung von FVIIa an TF. Auf der Zelloberfläche ist TF überwiegend in cholesterinreichen Mikrodomänen lokalisiert. Nach Bindung von FVIIa an TF wird aber auch eine Internalisierung und Degradation von TF beobachtet. Sowohl für die Degradierung als auch für die Steigerung der Oberflächenexpression bedarf es der proteolytischen Aktivität von FVIIa. Während für die Endozytose von TF FVIIa und eine PAR-2-Aktivierung notwendig sind, ist eine Mobilisierung von TF durch FVIIa oder andere PAR-aktivierende Proteasen möglich. Die TF-Expression auf der Zelloberfläche wird also von mehreren Faktoren kontrolliert. Zu ihnen gehören Synthese, Exozytose und Endozytose.

Level der TF-Expression werden organspezifisch reguliert. In gut durchbluteten Organen wie Lunge, Gehirn und Plazenta findet sich eine große Menge TF (Drake et al. 1989; Faulk et al. 1990; Fleck et al. 1990; Eddleston et al. 1993). Weniger TF findet sich in Herz, Niere, Darm, Hoden, Haut und Uterus, während Milz, Thymus und Leber (Fleck et al. 1990; Mackman 1993; Flossel et al. 1994) nur geringe Mengen TF exprimieren und im Skelettmuskel kein TF nachzuweisen ist (Tab. 15.2).

#### Zellulärer TF und gewebespezifische Hämostase

Zur Aufrechterhaltung der Hämostase in Organismen mit einem Gefäßsysten ist Blutgerinnung notwendig. Die gewebespezifische Expression von TF und antikoagulatorischer Proteine wie Tissue Factor Pathway Inhibitor (TFPI), Protein C und Antithrombin lassen auf eine gewebespezifische Regulation der Gerinnungsaktivierung schließen. Mäuse, denen TF oder FVIIa fehlt, sterben während der Embryonalentwicklung oder unmittelbar nach der Geburt (Carmeliet et al. 1996; Rosen et al. 1997). Mäuse, die ein humanes TF-Gen auf niedrigem Niveau exprimieren (1% der TF-Spiegel der Wildtypmäuse) zeigen diese Letalität nicht mehr, entwickeln aber im Verlauf ihres Lebens spontane Blutungen in Plazenta, Lunge, Herz, Gehirn, Hoden und Uterus. TF ist also wichtig für die Hämostase in gefäßreichen Organen wie der Plazenta und in Organen, die einer starken mechanischen Belastung ausgesetzt sind (Lunge, Herz, Plazenta) (Mackman 2005). Interessanterweise zeigen Mäuse mit einer nur 0,5%igen Expression von FVII ein identisches Blutungsmuster, der TF-FVIIa-Komplex reguliert also die Hämostase gewebespezifisch.

Im Gegensatz dazu findet man bei verringerter Expression von Proteinen der intrinsischen Gerinnungskaskade (FVIII, FIX) vermehrte Muskel- und Gelenkblutungen. Dies entspricht klinischen Beobachtungen bei Hämophiliepatienten. Im Skelettmuskel wird TF nur in der Adventitia exprimiert und nicht in den Muskelzellen, wodurch eine primäre hämostatische Barriere geschaffen wird. Im Gegensatz dazu wird TF in Kardiomyozyten exprimiert, wodurch eine zusätzliche sekundäre hämostatische Barriere geschaffen wird (Abb. 15.3).

Eine ähnliche Gewebespezifität findet sich auch bei den Inhibitoren der Gerinnungskaskade. Die Oberfläche von Endothelzellen ist durch Expression von TFPI und Thrombomodulin antithrombotisch. Mausmodelle haben gezeigt, dass auch bei den antikoagulatorischen Proteinen TFPI, Protein C und Antithrombin eine gewebespezifische Expression beobachtet wird. So reguliert TFPI insbesondere in der Plazenta die extrinsische Gerinnungskaskade, Protein C

**Tab. 15.2.** Nachgewiesene TF-Expression in Zellen und Organen

| Organ/Zelle | TF-Protein | TF-mRNA | Spezies | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| Fibroblasten | + | + | Mensch | – |
| Perizyten | + | – | Mensch | – |
| Glatte Muskelzellen | + | + | Mensch | Wachstumsfaktoren |
| Endothelzellen | + | + | Mensch | Zytokine, LPS |
| Kardiomyozyten | + | + | Mensch | – |
| Astrozyten | + | + | Mensch, Maus | – |
| Fettzellen | – | + | Mensch | – |
| Alveolarmakrophagen | + | – | Mensch | – |
| Gehirn | + | + | Mensch, Maus | – |
| Lunge | + | | Mensch, Maus | – |
| Plazenta | + | + | Mensch, Maus | – |
| Herz | + | + | Mensch, Maus | – |
| Darm | – | + | Maus | – |
| Niere | + | + | Maus | – |
| Hoden | – | + | Maus | – |
| Haut | – | + | Maus | – |
| Uterus | – | + | Maus | – |
| Milz | – | + | Maus | – |
| Thymus | – | + | Maus | – |
| Leber | – | + | Maus | – |
| Monozyten | + | + | – | – |
| Thrombozyten | | + | – | TF-prä-mRNA |
| Mikropartikel | + | – | – | – |

*LPS* Lipopolysaccharid; *mRNA* Messenger-RNA; *TF* Tissue Factor

im Herzen und Antithrombin in der Leber (Mackman 2005). Diese gewebespezifische Regulation der extrinsischen Gerinnungskaskade spiegelt die spezifische hämostatische Beanspruchung verschiedener Gewebe wider. So sind Blutgefäße im Herzen einer größeren mechanischen Beanspruchung mit häufigeren Mikroverletzungen ausgesetzt und benötigen deshalb eine andere hämostatische Regulation als z. B. Lebergewebe. Eine therapeutische Hemmung der gewebespezifischen Hämostase könnte die Grundlage für den Einsatz spezifischer antikoagulatorischer Therapien sein.

### Mikropartikelassoziierter TF

Neuere Untersuchungen haben gezeigt, dass TF nicht nur in der mononukleären Zellfraktion im zirkulierenden Blut exprimiert wird (Ott et al. 2001), sondern auch im Plasma (Giesen et al. 1999). Zirkulierender TF befindet sich auf Mikropartikeln, die von aktivierten oder apoptotischen Leukozyten, Endothelzellen, glatten Muskelzellen und Thrombozyten freigesetzt werden (Llorente-Cortes et al. 2004; Kushak et al. 2005; Steppich et al. 2005; Leroyer et al. 2008). Dieser sogenannte »blood born« TF akkumuliert in entstehenden Thromben über P-Selektin, CD15, CD18 und TF-abhängige Mechanismen (Giesen et al. 1999).

Der zelluläre Ursprung des »blood born« TF variiert unter verschiedenen pathophysiologischen Bedingungen. Während unter basalen Bedingungen Mikropartikel von Thrombozyten eine wesentliche Rolle spielen, überwiegen nach LPS-Stimulation monozytäre Mikropartikel (Aras

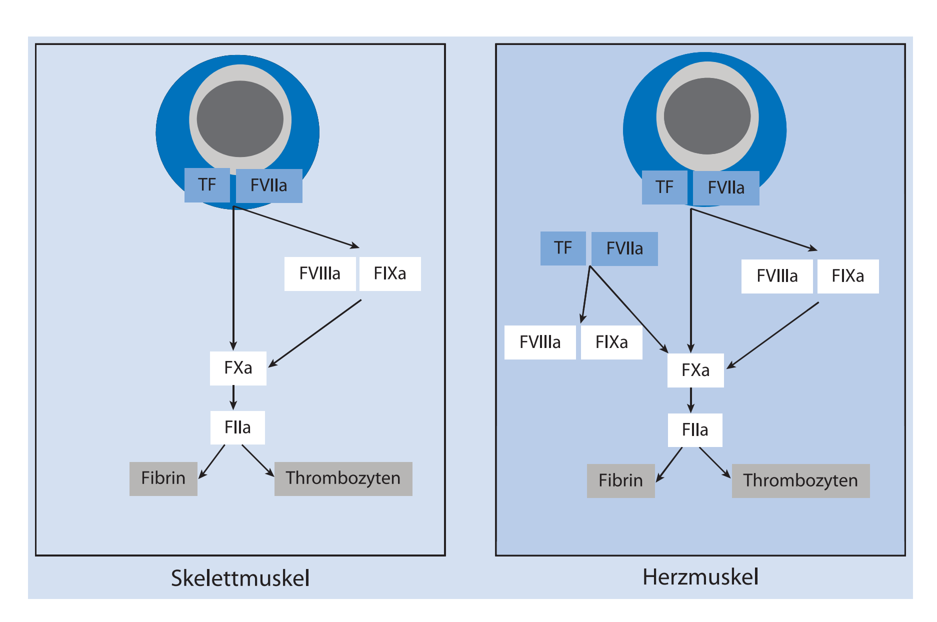



**Abb. 15.3.** Modell der TF-abhängigen gewebespezifischen Hämostase: Im Skelettmuskel befindet sich nur eine primäre hämostatische Barriere durch TF in der Adventita der Blutgefäße (*dunkelblau*). Die hohe TF-Expression in Herzmuskelzellen (*hellblau*) bildet eine sekundäre hämostatische Barriere zusätzlich zur primären hämostatischen Barriere der Adventitia. *Grau* Endothelzellen; *Schwarz* Blut; *TF* Tissue Factor

et al. 2004). Obwohl TF-mRNA in Megakaryozyten und Thromboztyen nicht gefunden wird, lässt sich aus prä-mRNA TF synthetisieren. Weiterhin wurde ein Membrantransfer durch multiple Fusionsprozesse zwischen Monozyten, Endothelzellen und Thrombozyten bei der Bildung TF-positiver Mikropartikel als zugrunde liegender Mechanismus vermutet. Neutrophile Granulozyten stellen eine weitere Quelle mikropartikelassoziierten TF dar, wobei unklar ist, inwieweit dieser auf Fusion oder Phagozytose mit anderen Zellen beruht (Nakamura et al. 2004; Osterud 2004). Endotheliale Mikropartikel tragen nur bei Erkrankungen mit massiver Endothelzellaktivierung wie dem Antiphospholipidantikörpersyndrom zum »blood born« TF bei (Dignat-George et al. 2004). Leukozytäre und endotheliale Mikropartikel wiederum stimulieren die TF-Expression in Monozyten und Endothelzellen (Mesri u. Altierei 1998; Mesri u. Altieri 1999). TF-positive Mikropartikel sind im zirkulierenden Blut bei kardiovaskulären Erkrankungen, Diabetes, Krebserkrankungen, Sichelzellanämie und Sepsis erhöht (Misumi et al. 1998; Shet et al. 2003; Aras et al. 2004; Rauch u. Antoniak 2007) und könnten Thrombosen begünstigen. Eine Hemmung der Freisetzung dieser TF-positiven Mikropartikel könnte ein neuer pharmakologischer Ansatz sein, um das Thromboserisiko zu reduzieren. Da TF-negative Mikropartikel auch prokoagulatorisch wirken, ist es nicht möglich, funktionellen TF nur durch Bestimmung der zirkulierenden Mikropartikel zu messen. Die Bedeutung von TF-positiven und TF-negativen Mikropartikeln für die Thrombusbildung bei verschiedenen Erkrankungen ist bisher noch unklar.



## Löslicher TF

Die alternativ gespleißte Form asTF wird von Endothelzellen und anderen Zelltypen nach Stimulation mit Entzündungsmediatoren freigesetzt und findet sich im zirkulierenden Blut in einer löslichen Form (Szotowski et al. 2005). AsTF besitzt keine transmembrane Domäne und endet mit einer einzigartigen Peptidsequenz. Es wurde beschrieben, dass asTF nach Exposition mit Phospholipiden eine prokoagulatorische Aktivität besitzt. Da diese Beobachtungen jedoch nur bei supraphysiologischen Konzentrationen von asTF beobachtet wurden, spielen sie möglicherweise unter physiologischen Bedingungen keine Rolle.

## Prokoagulatorische Funktion von TF-FVIIa

Der Gerinnungsfaktor VII ist der natürliche Ligand von TF und vermittelt sowohl hämostatische als auch nichthämostatische Funktionen von TF. Die extrinsische Gerinnungskaskade wird durch den Komplex aus TF-FVIIa initiiert. TF-FVIIa aktiviert FIX ebenso wie FX. Die initiale Menge an gebildetem FXa ist sehr gering. Erst die Bildung von Thrombin bewirkt eine Aktivierung der Faktoren V, VIII und XI. FVIIIa bildet einen Komplex mit FIXa, wodurch die für eine anhaltende Gerinnungsaktivierung notwendige Menge FXa gebildet wird (Propagierungsphase). FXa interagiert mit FVa und spaltet Prothrombin in Thrombin. Der Prothrombinasekomplex aktiviert Thrombozyten, die wiederum FV, FVIII und FXI aktivieren. FIXa, der durch den TF-FVIIa-Komplex gebildet wird, diffundiert über das zirkulierende Blut an die Oberfläche von Throm-

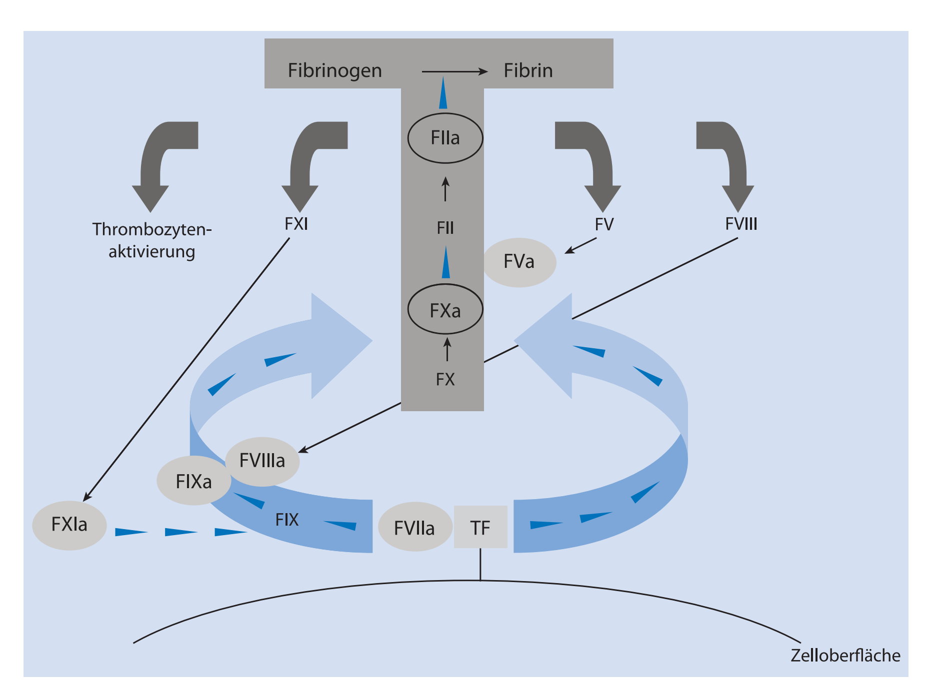



**Abb. 15.4.** TF-abhängige Gerinnungsaktivierung: direkte (extrinsischer Gerinnungsweg, *rechte Seite*) oder indirekte, durch FIXa vermittelte Aktivierung der Gerinnungskaskade (intrinsischer Gerinnungsweg, *linke Seite*). *FIIa* Protease; *FXIa* Koaktivator; *FX* Zymogen; *blaue Pfeile* Gerinnung; *schwarze Pfeile* Zymogenaktivierung; *TF* Tissue Factor

bozyten, wo FIX mit FVIIIa einen Tenasekomplex bildet, der FX zu FXa aktiviert. FXa bildet den Prothrombinasekomplex, der auf der Thrombozytenoberfläche eine ausgedehnte Thrombinbildung induziert und ein Fibringerinnsel bildet (Abb. 15.4).

FVII und FVIIa binden in Anwesenheit von Kalziumionen an TF mit einem Optimum von 1–5 mmol/l. Die Bindung im gereinigten System saturiert mit einer Stöchiometrie von einem Molekül FVII/FVIIa pro Molekül TF. Bindungsstudien auf Zelloberflächen weisen auch auf eine 1:1-Stöchiometrie auf TF-positiven Zellen hin. Stimulierte Monozyten exprimieren 3.000–14.000 TF-Moleküle, während auf konstitutiv exprimierenden Zellen bis zu mehreren 100.000 TF-Moleküle gefunden werden. TF bindet FVII mit etwas geringerer Affinität als FVIIa.

Obwohl in verschiedenen Bindungsstudien für die Interaktion von FVII/FVIIa und TF Dissoziationskonstanten von 1 mmol/l bis 90 pmol/l gemessen wurden, zeigten Dissoziationsexperimente eine Halbwertszeit für den TF-FVIIa-Komplex auf Zelloberflächen von 20–40 min, was für eine hochaffine Bindung spricht. Im Blut zirkulieren ungefähr 99% des FVII als inaktives Zymogen. Nach Gewebeverletzung wird die Bindung Arg152/Ile153 des Zymogens proteolytisch gespalten, um eine leichte Kette von 152 Aminosäuren Länge und eine schwere Kette von 254 Aminsäuren Länge zu bilden, die durch eine Disulfidbrücke verbunden sind (Hagen et al. 1986). Die leichte Kette besteht aus einer aminoterminalen, 10-γ-Carboxyglutaminsäurereste umspannenden (Gla-)Domäne, die eine reversible Bindung an Phospholipidmembranen ermöglicht, was für die Interaktion mit TF notwendig ist. Im gereinigten System konnte jedoch gezeigt werden, dass FVII/FVIIa und TF ohne Phospholipide mit der gleichen Affinität wie an TF auf Zelloberflächen binden. Dies lässt vermuten, dass FVII/FVIIa vornehmlich mittels Protein-Protein-Interaktionen an TF bindet. Der FVII-FVIIa-Komplex besitzt eine sogenannte »stack region« mit einer hydrophoben α-Helix am Carboxyterminus der Gla-Domäne, welche an eine hydrophobe Domäne von TF bindet. Diese Grenzfläche zwischen den beiden Proteinen ist auf der TF-Seite ebenfalls hydrophob, wo die auf der Oberfläche exponierte Disulfidbrücke im carboxyterminalen Modul von TF zusammen mit Val207 und Tryp158 den Kontakt ausmachen.

Der relativ geringe Einfluss dieser Grenzfläche auf die Affinität weist darauf hin, dass diese spezifische Interaktion eher für die Orientierung der Gla-Domäne und deren Funktion bei der Interaktion mit makromolekularen Substraten von Bedeutung ist. Die dafür verantwortliche Bindungsstelle ist in der 1. EGF-Domäne (EGF: »epidermal growth factor«) von FVIIa lokalisiert. Eine kontinuierliche Grenzfläche mit TF wird von der zweiten EGF-Domäne und der katalytischen Domäne gebildet. Die schwere Kette von FVIIa enthält die katalytische Serinproteasendomäne. FVIIa exprimiert erst nach Bindung an TF seine komplette

prokoagulatorische Aktivität (Huang et al. 2006). Dabei spielt die strukturelle Stabilisierung nach Bindung an TF eine entscheidende Rolle (Rand et al. 2006). Die FVII-Zymogenaktivierung beinhaltet eine Konformationsänderung in der TF-Bindungsregion der Proteasedomäne, die auf einer Verschiebung von 3 Aminosäuren des ß-Stranges B2 relativ zum Strang A2 beruht. Dabei verschieben sich die Reste Thr151 bis Val160 in die C-terminale Richtung relativ zu FVIIa, obwohl die wesentlichen Wasserstoffbindungen zwischen den ß-Strängen B2 und A2 unverändert bleiben (»FVIIa disulfide lock strategy«; Eigenbrot et al. 2001).

Die Orientierung der Serinproteasendomäne, insbesondere des Restes Met306 relativ zu TF, ist entscheidend für die TF-induzierte allosterische Verstärkung der Aktivität. Die Bindung von FVIIa an TF erleichtert die stabilisierende Insertion des aminoterminalen Endes der Proteasendomäne von FVII in die FVII-Aktivierungstasche und die Bildung einer Salzbrücke mit Asp343 der Seitenkette. Da FX die gleiche Affinität für freien und TF-gebundenen FVIIa besitzt (Bom u. Bertina 1990), beruht die mangelnde Fähigkeit von freiem FVIIa, FX zu aktivieren, auf der mangelnden katalytischen Aktivität von FVIIa und nicht auf einer verringerten Substratbindung (Persson 2006). Freier FVIIa aktiviert wenig FX, weil das aminoterminale Ende einerseits nicht korrekt in der Aktivierungstasche liegt oder weil es sich andererseits vor Aktivierung von FX aus der Aktivierungstasche löst. Die Bedeutung der Stabilität des aminoterminalen Endes von FVIIa wurde durch FVIIa-Mutanten gezeigt, bei denen das aminoterminale Ende stabil in der Aktivierungstasche verankert war. Diese superaktiven Mutanten aktivieren FX unabhängig von TF mit einer größeren Geschwindigkeit als freier oder TF-gebundener FVIIa (Persson 2006).

Nach Bildung des TF-FVIIa-Komplexes befindet sich das aktive Zentrum von FVIIa ca. 75 Angström über der Membranoberfläche. Dieser Abstand ist wichtig für die optimale Funktion, da chimere Mutanten (TF/P-Selektin), bei denen dieser Abstand vergrößert ist, eine verminderte Aktivität nach Bindung von FVIIa besitzen (McCallum et al. 1997). Löslicher TF, der nur aus der extrazellulären Domäne besteht, besitzt eine geringe Aktivität. Die gesamte Aktivität wird wiederhergestellt, wenn man an das C-terminale Ende von löslichem TF eine Domäne anfügt, die reversibel Metallionen bindet (»Hexa-Histidin-tag«) und verwendet, welche Nickel-Chelat-Lipide enthalten und so den TF binden können. Einen ähnlichen Effekt hat eine Fusion mit der membranbindenen Region von P-Selektin, was ebenfalls eine Membranverankerung ermöglicht (Waters u. Morrissey 2006). Dagegen hat die Gla-Domäne von FVIIa keinen Einfluss auf die Positionierung des aktiven Zentrums. Die extrazelluläre Domäne von TF ist also rigide genug, FVIIa in einem ausreichenden Abstand von der Zelloberfläche zu halten. Die Gla-Domäne ist dagegen für eine Kalziumbindung notwendig, die eine Konformationsänderung von FVII induziert, wodurch Epitope exponiert werden, die für eine TF-FVIIa-Interaktion erforderlich sind.

In geringerem Ausmaß als für andere Gerinnungsfaktoren sind für die volle prokoagulatorische Funktion des TF-FVIIa-Komplexes Phospholipidoberflächen notwendig. So hemmt Annexin V, das Phosphatidylserin blockiert, die Aktivität des Komplexes von FXa-FVa zu 99%, während die TF-FVIIa-Aktivität nur zu 50% inhibiert wird (Wildgoose et al. 1992).

Das aminoterminale Ende der Serinproteasendomäne von FVIIa vermittelt die Bindung von FXa und induziert die volle Aktivierung von FVIIa. Modelle des ternären Komplexes TF-FVIIa-FXa zeigen, dass die aminoterminale Insertionsstelle und das aktive Zentrum an der Grenzfläche des FVIIa-FXa-Komplexes liegen (◘ Abb. 15.5). Spezifische Strukturen (Exosites) von TF-FVIIa und FX, die unterschiedlich vom aktiven Zentrum sind, tragen zu Bildung des ternären Komplexes bei. In einem atomaren Modell von löslichen TF-FVIIa-FXa-Komplexen ist der 140-s-Ring von FVIIa entscheidend für die Komplexbildung. Dieser interagiert mit 3 Exosites von FXa: der B2-Region des β-Stranges in der Nähe der natriumbindenden Domäne, der 160-s-Schleife und der aminoterminalen Schleife der Serinproteasendomäne (Venkateswarlu et al. 2003). Wegen struktureller Homologien der Gerinnungsfaktoren FVIIa und FIXa sowie von FXa und aktiviertem Protein C sind die Exosites zur Aufrechterhaltung der Substratspezifität wahrscheinlich unerlässlich.

Die EGF1-Domäne von FXa enthält wichtige Erkennungsmotive für TF. Sie ist weiterhin für die Aktivierung des TF-FVIIa-Komplexes und für die Bildung des quarternären TF-FVIIa-FXa-TFPI-Komplexes wichtig (Venkateswarlu et al. 2003).

### TF und Signaltransduktion

Zusätzlich zu der gut charakterisierten Rolle bei der Gerinnungsaktivierung induziert der TF-FVIIa-Komplex intrazelluläre Veränderungen. Diese beinhalten die Aktivierung von Signalkaskaden, Gentranskription und Proteinbiosynthese. Über diese Signaltransduktion beeinflusst TF Entzündungsprozesse und Angiogenese und könnte dadurch bei Krebserkrankungen und kardiovaskulären Erkrankungen eine Rolle spielen.

TF ist notwendig für die Embryonalentwicklung: In Abwesenheit von TF werden Defekte bei der Gefäßentwicklung beobachtet, die ein Absterben der Embryos an Tag 10,5 zur Folge haben (Carmeliet et al. 1996). Daneben trägt TF bei verschiedenen Krebserkrankungen zum Tumorwachstum und der Angiogenese bei. Auch bei Patienten mit Sepsis induziert TF eine disseminierte intravasale Gerinnung und steigert die systemische Entzündungsreaktion. Dabei

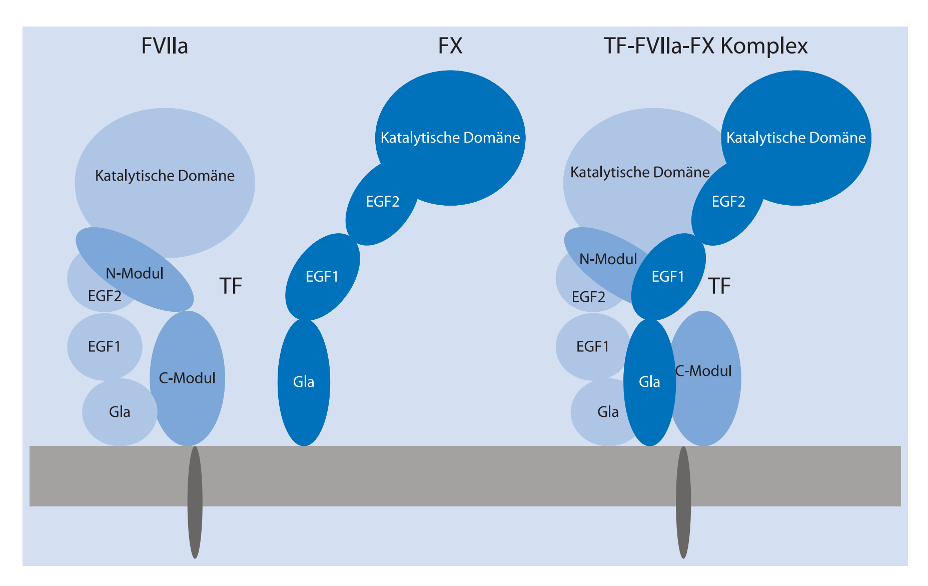



**Abb. 15.5.** Interaktion des TF-FVIIa-Komplexes mit FXa. *Blau* extrazelluläre Domäne von TF; *Grau* transmembrane und zytoplasmatische Domäne; *Hellblau* FVIIa; *Dunkelblau* FXa; *EGF* »epidermal growth factor«; *Gla* Gla-Domäne; *TF* Tissue Factor

werden unabhängig von der Gerinnungsaktivierung Signaltransduktionsmechanismen beeinflusst.

Die Gerinnungsfaktoren FVIIa, FXa und Thrombin aktivieren als Serinproteasen spezifische G-Protein-gekoppelte Rezeptoren, die proteasenaktivierte Rezeptoren genannt werden (PAR). Diese Familie von Rezeptoren besteht aus mindestens 4 Mitgliedern: PAR-1, PAR-2, PAR-3 und PAR-4. Der TF-FVIIa-Komplex aktiviert PAR-2, nach Bildung des ternären Komplexes mit FXa erfolgt zusätzlich die Aktivierung von PAR-1, dem klassichen Thrombinrezeptor. Die Bedeutung von PAR-2 bei der TF-FVIIa-vermittelten Signaltransduktion wurde erstmals in Eizellen gezeigt, die nur nach Überexpression von PAR-2 durch TF-FVIIa stimuliert wurden (Camerer et al. 2000). Weitere Untersuchungen bestätigten die Bedeutung von PAR-2 bei der TF-FVIIa-induzierten Aktivierung der mitogenaktivierten Kinase (MAP) p42/44 in anderen Zelltypen, wie Endothelzellen (Sethi et al. 2005), glatten Muskelzellen (Marutsuka et al. 2002) und Brustkrebszellen (Morris et al. 2006), nicht jedoch in Fibroblasten (Bachli et al. 2003). Dabei wird die zytoplasmatische Domäne von TF über die Aktivierung von PAR-2 phosphoryliert.

In-vitro-Experimente identifizierten proinflammatorische Effekte des TF-FVIIa-Komplexes. In Makrophagen induziert TF Interleukin-6 (Il-6) und Il-8, in Keratinozyten und Brustkrebszellen steigert der TF-FVIIa-Komplex die Expresssion von proinflammatorischen Zytokinen wie Il-8. In tierexperimentellen Untersuchungen zeigte sich ein verringerte Entzündungsreaktion nach Hemmung des TF-FVIIa-Komplexes (Taylor et al. 1991a) oder von FXa (Taylor et al. 1991b). Inwieweit PAR-Rezeptoren an diesen Effekten beteiligt sind, ist noch nicht vollständig geklärt.

In menschlichen Fibroblasten und Endothelzellen stimuliert der TF-FVIIa-Komplex die Sekretion von »vascular endothelial growth factor« (VEGF; Ollivier et al. 2000). Andere Untersuchungen haben gezeigt, dass die zytoplasmatische Domäne von TF die VEGF-Sekretion und Angiogenese steigert. Dabei scheint eine Interaktion mit PAR-2 von entscheidender Bedeutung zu sein. In transgenen Mäusen, die TF ohne zytoplasmatische Domäne exprimierten, zeigte sich eine gesteigerte Angiogenese. Dies war in Abwesenheit von PAR-2 nicht mehr zu beobachten. Die Tatsache, dass eine PAR-2-Deletion keinen Einfluss auf die Angiogenese zeigte und dass das Ausmaß der Angiogenese in den Doppel-Knockout-Mäusen vergleichbar mit den Wildtypmäusen war, deutet auf eine Interaktion von TF und PAR-2-Signaltransduktion hin. Ein möglicher zugrunde liegender Mechanismus wäre, dass die zytoplasmatische Domäne von TF proangiogenetische Signale von PAR-2 inhibiert. Für eine Interaktion von PAR-2- und TF-Signalwegen spricht auch, dass eine Hemmung der Angiogenese durch Überexpression von TF nur in Wildtypmäusen, nicht aber in PAR-2-defizienten Mäusen zu beobachten war (Ahamed u. Ruf 2004; Belting et al. 2004).

Die inhibitorische Wirkung von TF ist abhängig von der Phosphorylierung der zytoplasmatischen Domäne. In ruhenden Endothelzellen liegt die zytoplasmatische Domäne von TF in unphosphorylierter Form vor. Eine Aktivierung der Proteinkinase C induziert die Phosphorylierung von Ser253, gefolgt von der Phosphorylierung von Ser258 durch eine bisher unbekannte, prolingerichtete Kinase. Ins-

besondere nach Stimulation von PAR-2 (nicht jedoch PAR-1) kommt es zu einer anhaltenden PKC-Aktivierung. Im Gegensatz dazu verhindern Thioestermodifizierungen der zytoplasmatischen Serinreste der zytoplasmatischen Domäne die Phosphorylierung (Dorfleutner u. Ruf 2003).

PAR-2-Expression und Veränderungen der Palmitoylierung sind also wichtige Regulatoren des Phosphorylierungszustandes der zytoplasmatischen Domäne von TF. Untersuchungen der pathologischen Neovaskularisation des Auges zeigten eine Assoziation von phosphoryliertem TF und PAR-2 mit abnormalen, proliferierenden Gefäßen, wohingegen sich in normalen Gefäßen nur unphosphorylierter TF fand. TF-Phosphorylierung und PAR-2-Aktivierung könnten also die hemmende Funktion der zytoplasmatischen Domäne aufheben und dadurch eine PAR-2-induzierte Steigerung der Angiogenese bewirken (Belting et al. 2005). Dabei scheint ein zugrunde liegender Mechanismus die Hemmung der $\alpha_{III}\beta_1$-induzierten Migration durch die unphosphorylierte zytoplasmatische Domäne von TF zu sein (Dorfleutner et al. 2004). Inwieweit TF die physiologische Angiogenese beeinflusst, ist bisher unklar – es ist jedoch vorstellbar, dass die Dephosphorylierung der zytoplasmatischen Domäne von TF ein negativer Regulator für eine exzessive Neovaskularisation darstellt.

Unabhängig von der proteolytischen Funktion von FVIIa steigert TF die Zellmigration in Abhängigkeit von der zytoplasmatischen Domäne. Dies geschieht über einen neuen Signalweg, der eine Aktivierung der mitogenaktivierten Proteinkinase (MAPK) p38 und der Guanosintriphosphatase Rac1 einschließt (Ott et al. 2005a). Dieser Mechanismus spielt bei der Neointimabildung nach Gefäßwandverletzung über eine Steigerung der Migration glatter Muskelzellen von der Media in die Neointima eine Rolle (Ott et al. 2005b).

Ein weiterer Mechanismus, über den TF physiologische und pathophysiologische Prozesse beeinflusst, ist eine Veränderung der Genexpression. Die Bindung von FVIIa an TF induziert eine RNA-Polymerase in Fibroblasten und könnte dadurch Transkriptionsvorgänge beeinflussen (Pendurthi et al. 1997). Daneben induziert TF-FVIIa eine Aktivierung des Transkriptionsfaktors »early growth response gene-1« (EGR-1), der für die Genexpression nach Gefäßverletzungen eine wichtige Rolle spielt, und verschiedene Gene in LPS-stimulierten Monozyten (»growth related oncogene-β«/GRO-β, Il-6, Il-8, TNF-α und α1-Antitrypsin; Riewald u. Ruf 2001). Inwieweit translationelle Regulationsmechanismen beeinflusst werden, ist bisher unklar, so wurde eine Assoziation der Steigerung der Genexpression mit der Proteinexpression bisher nur für wenige Gene wie Il-8 gezeigt (Wang et al. 2002).

Diese ersten Hinweise für eine Bedeutung von TF bei der Signaltransduktion und der Interaktion mit anderen Rezeptoren erfordern weitere Untersuchungen, um die genaueren Zusammenhänge hämostatischer und nichthämostatischer Funktionen von TF zu erfassen.

## 15.1.3 Pathophysiologie

### TF bei arterieller und venöser Thrombose

Die pharmakologische Hemmung von TF durch inhibierende Antikörper, TFPI und Inhibitoren des TF-FVIIa-Komplexes reduziert in verschiedenen Tiermodellen sowohl arterielle als auch venöse Thrombosen (Arnljots 1997; Asada et al. 1998; Roque et al. 2000; Moons et al. 2003; Suleymanov et al. 2003; Szalony et al. 2003; Chi et al. 2004; Olivero et al. 2005; Young et al. 2006). Dabei ist TF in der Gefäßwand und auf zirkulierenden Mikropartikeln in unterschiedlichem Ausmaß beteiligt. In atherosklerotischen Gefäßen wird TF in Makrophagen, glatten Muskelzellen und Fibroblasten exprimiert (Wilcox et al. 1989). Durch Ballondilatation wird die TF-Expression in der Gefäßwand noch gesteigert (Hatakeyama et al. 1998; Chi et al. 2004). Bei der arteriellen Thrombose induziert eine Gefäßwandverletzung oder Ruptur einer atherosklerotischen Plaque die Exposition von TF mit dem zirkulierenden Blut und die Bildung eines okkludierenden Thrombus. Tierexperimentelle Untersuchungen haben gezeigt, dass zirkulierende leukozytäre Mikropartikel abhängig von der Gefäßverletzung zur Thrombusbildung und -propagation beitragen (Chou et al. 2004; Day et al. 2005). Eine therapeutische Hemmung des TF-FVIIa-Komplexes könnte also eine effektive Behandlungsmethode bei der arteriellen Thrombose darstellen. Bei der venösen Thrombose dagegen bleibt die Endothelschicht intakt und allein zirkulierender TF könnte zur Thrombuspropagation beitragen (Himber et al. 2003). Inwieweit dieser Mechanismus bei der venösen Thrombose beim Menschen eine Rolle spielt, ist bisher unklar.

### TF bei kardiovaskulären Erkrankungen

TF ist assoziiert mit verschiedenen Risikofaktoren, wird in atherosklerotischen Gefäßen exprimiert und spielt bei der Pathophysiologie des akuten Koronarsyndroms eine wichtige Rolle.

Bei hypertensiven Patienten ist der Plasmaspielgel von TF-Antigen erhöht und wird durch ACE-Hemmer (ACE: »Angiotensin converting enzyme«) oder Angiotensin-1-(AT1-)Antagonisten reduziert (Soejima et al. 1999a).

Auch erhöhte Plasmaglukosekonzentrationen steigern die thrombininduzierte TF-Expression in Monozyten bei gesunden Kontrollpersonen. Dabei induziert die Hyperglykämie die Bildung von »advanced glycation end products« (AGE), die in Endothelzellen über den Rezeptor für AGE (RAGE) eine NF-κB-Aktivierung und TF-Expression induzieren (Bierhaus et al. 1997). Diabetische Apolipoprotein-E-(ApoE-)Knockout-Mäuse zeigen eine gesteigerte

vaskuläre Expression von RAGE und TF, und eine Hemmung von RAGE inhibiert die TF-Expression in den Aorten der Tiere (Kislinger et al. 2001). Dieser Mechanismus könnte für die Pathogenese und Therapie der diabtischen Makro- und Mikroangiopathie von Bedeutung sein. Bei Diabetikern beobachtet man erhöhte Plasmaspiegel von TF (Lim et al. 2004), die durch eine verbesserte Blutzuckereinstellung reduziert werden (Sambola et al. 2003). Bei übergewichtigen, nichtdiabetischen Patienten reduziert Insulin sowohl den TF-Plasmaspiegel als auch die TF-Expression in Monozyten. Dies geschieht durch eine Hemmung des Transkriptionsfaktors EGR-1, was ein Hinweis für zusätzliche Effekte des Insulins ist, die unabhängig von der Blutzuckerkontrolle sind (Aljada et al. 2002).

»Oxidized low density lipoprotein« (oxLDL) steigert die TF-Expression in Monozyten, Makrophagen und Endothelzellen (Drake et al. 1991), während »high density lipoprotein« (HDL) die thrombininduzierte TF-Expression hemmt (Viswambharan et al. 2004). In Einklang mit diesen Beobachtungen fanden sich bei Patienten mit erhöhten LDL-Werten erhöhte Plasmaspiegel von TF, die durch 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A-(HMG-CoA-)Reduktaseinhibitoren gesenkt wurden (Eto et al. 2002). Bei ApoE-Knockout-Mäusen reduzierten HMG-CoA-Reduktaseinhibitoren unabhängig von der Wirkung auf die Plasmalipide auch die TF-Expression in atherosklerotischen Gefäßen (Bea et al. 2003). Die Reduktion der TF-Expression durch HMG-CoA-Reduktaseinhibitoren beruht also zum Teil auf den pleiotrophen, antiinflammatorischen Effekten der Statine.

Die Exposition von ApoE-Knockout-Mäusen gegenüber Zigarettenrauch steigert die TF-Expression in atherosklerotischen Läsionen im Vergleich zu Mäusen, die Raumluft atmen (Matetzky et al. 2000). Auch bei Rauchern beobachtet man erhöhte Plasmaspiegel von TF, dabei besteht ein Zusammenhang mit der Menge der konsumierten Zigaretten (Sambola et al. 2003).

Diese Zusammenhänge deuten darauf hin, dass TF zu den proatherosklerotischen Wirkungen verschiedener Riskofaktoren beiträgt. Es kann allerdings nicht ausgeschlossen werden, dass die Beobachtungen auf einer Freisetzung von TF aus bereits bestehenden atherosklerotischen Plaques beruhen.

Bei der Entstehung atherosklerotischer Läsionen infiltrieren Monozyten die Gefäßwand und transformieren in Makrophagen und Schaumzellen. Dadurch wird eine Entzündungsreaktion ausgelöst und Zytokine freigesetzt, was die TF-Expression induziert. Im frühen Stadium der Atherosklerose findet sich TF nur in Monozyten, später auch in Schaumzellen, Endothelzellen und glatten Muskelzellen (Wilcox et al. 1989). Mikropartikel dieser Zellen akkumulieren im »necrotic core« der Plaque und sind mit der Apoptose dieser Zellen assoziiert (Mallat et al. 2000). Neben Entzündungsprozessen spielt die Apoptose außerdem eine wichtige Rolle bei der Entwicklung der Plaquethrombogenität.

Mit zunehmendem Wachstum der atherosklerotischen Gefäßveränderung kommt es zu einer Lumeneinengung mit erhöhten Scherkräften, was wiederum die TF-Expression steigert. Für den klinischen Verlauf ist jedoch insbesondere die Plaquezusammensetzung entscheidend. Lipidreiche Plaques mit einer dünnen Kappe, einem großen »lipid core«, ausgedehnter Makrophageninfiltration und vermehrter TF-Expression rupturieren schneller als kollagenreiche, fibröse Plaques. Bei Ruptur einer Plaque kommt das zirkulierende Blut in Kontakt mit den thrombogenen Substanzen, wodurch TF enthaltende Mikropartikel und Makrophagen eine Thrombusbildung initiieren, Hieraus entwickelt sich ein thrombotischer Gefäßverschluss.

Außer bei den prothombotischen Effekten spielt TF auch bei Zellmigration und -proliferation eine Rolle (Cirillo et al. 2004). Die Bindung von FVIIa steigert die Migration und die Proliferation glatter Muskelzellen und beeinflusst dadurch Remodelling-Prozesse nach Gefäßwandverletzung. Unabhängig von der proteolytischen Aktivität von FVIIa induziert die Bindung an TF die Zellmigration (Ott et al. 2005a). Dieser Mechanismus trägt vermutlich wesentlich zum vaskulären Remodelling bei, da Mäuse ohne die zytoplasmatische Domäne von TF eine Verringerung der Neointimabildung zeigen (Ott et al. 2005b). Da TF auch bei der Angiogenese von Bedeutung ist (Carmeliet et al. 1996), könnte über eine gesteigerte Plaquevaskularisierung eine Plaqueinstabilität gefördert werden. TF ist also wesentlich an der Thrombogenität einer Plaque beteiligt, beeinflusst aber auch Plaquestabilität und -progression.

Bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom wird TF nicht nur lokal in der Plaque (Annex et al. 1995), sondern auch im zirkulierenden Blut exprimiert (Soejima et al. 1999b). Da thrombozytäre Mikropartikel einen Teil des zirkulierenden TF darstellen, stellt sich die Frage, inwieweit antithrombozytäre Medikamente zirkulierenden TF reduzieren. Im experimentellen Myokardinfarkt reduzierte der Adenosindiphosphat-(ADP-)Antagonist Clopidogrel die lokale TF-Expression (Molero et al. 2005). Der GP-IIb/IIIa-Antagonist Abciximab reduziert die TF-Expression in Monozyten durch Inhibierung der Monozyten-Thrombozyten-Interaktion (Kopp et al. 2003). Aspirin dagegen hemmt die endotoxininduzierte transkriptionelle Aktivierung der TF-Expression (Osnes et al. 1996). Inwieweit dieser Mechanismus bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom, die Aspirin erhalten, von Bedeutung ist, ist bisher unklar. Im Gegensatz zu den antithrombozytären Medikamenten steigert eine orale Antikoagulation mit Vitamin-K-Antagonisten zirkulierenden TF, wahrscheinlich durch Verringerung des Verbrauchs (Seljeflot et al. 2004).

## TF bei malignen Erkrankungen

Krebserkrankungen sind häufig mit einem erhöhten Thromboserisiko assoziiert, was erheblich zur Morbidität und Mortalität dieser Patienten beiträgt. TF als Hauptinitiator der Gerinnungskaskade wird mit dieser vermehrten Thrombophilie in Zusammenhang gebracht, da viele Tumorzellen TF auf der Zelloberfläche exprimieren. Es wurden auch erhöhte Plasmaspiegel von zirkulierendem TF bei Krebspatienten beschrieben, die zur systemischen Hyperkoagulopathie beitragen könnten. Eine zunehmende Anzahl von Untersuchungen zeigte, dass TF ein charakteristischer Marker für bestimmte Malignome ist. Bei einer Anzahl von Tumorerkrankungen wie Glioblastom (Hamada et al. 1996), Mamma- (Ueno et al. 2000), Lungen- (Sawada et al. 1999), Kolon- (Seto et al. 2000), Prostata- (Akashi et al. 2003), Pankreas- (Kakkar et al. 1995) und Ovarialkarzinom (Han et al. 2006) wurde eine erhöhte TF-Expression beobachtet. Dabei wird TF entweder in den Tumorzellen selbst oder in Stromazellen gefunden. Das Ausmaß des TF-Gehaltes korreliert mit dem Malignitätsgrad, der Metastasierung und der klinischen Prognose.

Die TF-induzierte Thrombinbildung steigert die Metastasierungsrate einerseits über eine gesteigerte Fibrinbildung und Thrombozytenaktivierung, andererseits über TF-induzierte Signaltransduktion. Bei Mäusen zeigte sich, dass TF-induzierte Signaltransduktion für Tumorwachstum und Metastasierung wichtig sind. Unabhängig von der Gerinnungsaktivierung ist TF proangiogenetisch durch eine Induktion von VEGF und eine Hemmung des Angiogeneseinhibitors Thrombospondin. Dafür spricht auch die Beobachtung, dass die TF-Expression mit einer gesteigerten Angiogenese in soliden Tumoren und in hämatologischen Malignomen verbunden ist. Der TF-FVIIa-Komplex aktiviert PAR-2 und steigert dadurch die Expression von Wachstumsfaktoren und Integrinen in Kooperation mit der zytoplasmatischen Domäne von TF. Die dadurch gesteigerte Migrationsrate von Tumorzellen stimuliert Tumorprogression und Metastasierung. Darüber hinaus hemmt der TF-FVIIa-Komplex die Apoptose von Tumorzellen und fördert deren Überleben über die Aktivierung des $PIP_{3K}$/Akt- Signalwegs (Phosphatidyinositol-3 Kinase/Proteinkinase B[Akt]) und des p42/44-MAPK-Signalwegs. Die Aktivierung von »signal transducer and activator of transcription« (STAT-5) scheint auch für das verbesserte Überleben eine Rolle zu spielen. Die klinische Bedeutung dieser Mechanismen für verschiedene Tumorerkrankungen bedarf weiterer Untersuchungen.

## Literatur

Ahamed J, Ruf W (2004) Protease activated receptor 2-dependent phosphorylation of the tissue factor cytoplasmic domain. J Biol Chem 279: 23038–23044

Ahamed J, Versteeg HH, Kerver M et al. (2006) Disulfide isomerization switches tissue factor from coagulation to cell signaling. Proc Natl Acad Sci USA 103: 13932–13937

Akashi T, Furuya Y, Ohta S (2003) Tissue factor expression and prognosis in patients with metastatic prostate cancer. Urology 62: 1078–1082

Aljada A, Ghanim H, Mohanty P et al. (2002) Insulin inhibits the pro-inflammatory transcription factor early growth response gene-1 (Egr)-1 expression in mononuclear cells (MNC) and reduces plasma tissue factor (TF) and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) concentrations. J Clin Endocrinol Metab 87: 1419–1422

Annex BH, Denning SM, Channon KM et al. (1995) Differential expression of tissue factor protein in directional atherectomy specimens from patients with stable and unstable coronary syndromes. Circulation 91: 619–622

Aras O, Shet A, Bach RR et al. (2004) Induction of microparticle- and cell-associated intravascular tissue factor in human endotoxemia. Blood 103: 4545–4553

Arnljots B, Ezban, Hedner U (1997) Prevention of experimental arterial thrombosis by topical administration of active site-inactivated factor VIIa. J Vasc Surg 25: 341–346

Arnljots B, Ezban, Hedner U (1997) Prevention of experimental arterial thrombosis by topical administration of active site-inactivated factor VIIa. J Vasc Surg 25: 341–346

Asada Y, Hara S, Tsuneyoshi A et al. (1998) Fibrin-rich and platelet-rich thrombus formation on neointima: recombinant tissue factor pathway inhibitor prevents fibrin formation and neointimal development following repeated balloon injury of rabbit aorta. Thromb Haemost 80: 506–511

Bach R, Konigsberg WH, Nemerson Y (1988) Human tissue factor contains thioester-linked palmitate and stearate on the cytoplasmic half-cystine. Biochemistry 27: 4227–4231

Bach RR (2006) Tissue factor encryption. Arterioscler Thromb Vasc Biol 26: 456–61

Bachli EB, Pech CM, Johnson KM et al. (2003) Factor Xa and thrombin, but not factor VIIa, elicit specific cellular responses in dermal fibroblasts. J Thromb Haemost 1: 1935–1944

Bazan JF (1990) Structural design and molecular evolution of a cytokine receptor superfamily. Proc Natl Acad Sci USA 87: 6934–6938

Bea F, Blessing E, Shelley MI (2003) Simvastatin inhibits expression of tissue factor in advanced atherosclerotic lesions of apolipoprotein E deficient mice independently of lipid lowering: potential role of simvastatin-mediated inhibition of Egr-1 expression and activation. Atherosclerosis 167: 187–194

Belting M, Dorrell MI, Sandgren S et al. (2004) Regulation of angiogenesis by tissue factor cytoplasmic domain signaling. Nat Med 10: 502–509

Belting M, Ahamed J, Ruf W (2005) Signaling of the tissue factor coagulation pathway in angiogenesis and cancer. Arterioscler Thromb Vasc Biol 25: 1545–1550

Bierhaus A, Illmer T, Kasper M et al. (1997) Advanced glycation end product (AGE)-mediated induction of tissue factor in cultured endothelial cells is dependent on RAGE. Circulation 96: 2262–2271

Bogdanov VY, Balasubramanian V, Hathcock J (2003) Alternatively spliced human tissue factor: a circulating, soluble, thrombogenic protein. Nat Med 9: 458–462

Bom VJ, Bertina RM (1990) The contributions of $Ca^{2+}$, phospholipids and tissue-factor apoprotein to the activation of human blood-coagulation factor X by activated factor VII. Biochem J 265: 327–336

Brand K, Fowler BJ, Edgington TS et al. (1991) Tissue factor mRNA in THP-1 monocytic cells is regulated at both transcriptional and post-transcriptional levels in response to lipopolysaccharide. Mol Cell Biol 11: 4732–4738

Bromberg ME, Sundaram R, Homer RJ et al. (1999) Role of tissue factor in metastasis: functions of the cytoplasmic and extracellular domains of the molecule. Thromb Haemost 82: 88–92

Camerer E, Huang W, Coughlin SR (2000) Tissue factor- and factor X-dependent activation of protease activated receptor 2 by factor VIIa. Proc Natl Acad Sci USA 97: 5255–5260
Carmeliet P, Mackman N, Moons L (1996) Role of tissue factor in embryonic blood vessel development. Nature 383: 73–75
Carson SD (1996) Manifestation of cryptic fibroblast tissue factor occurs at detergent concentrations which dissolve the plasma membrane. Blood Coagul Fibrinolysis 7: 303–313
Censarek P, Bobbe A, Grandoch M et al. (2007) Alternatively spliced human tissue factor (asHTF) is not pro-coagulant. Thromb Haemost 97: 11–14
Chand HS, Ness SA, Kisiel W (2006) Identification of a novel human tissue factor splice variant that is upregulated in tumor cells. Int J Cancer 118: 1713–1720
Chen VM, Ahamed J, Versteeg HH et al. (2006) Evidence for activation of tissue factor by an allosteric disulfide bond. Biochemistry 45: 12020–12028
Chi L, Gibson G, Peng YW et al. (2004) Characterization of a tissue factor/factor VIIa-dependent model of thrombosis in hypercholesterolemic rabbits. J Thromb Haemost 2: 85–92
Chou J, Mackman N, Merrill-Skoloff G et al. (2004) Hematopoietic cell derived microparticle tissue factor contributes to fibrin formation during thrombus propagation. Blood 104: 3190–3197
Cirillo P, Cali G, Golino P et al. (2004) Tissue factor binding of activated factor VII triggers smooth muscle cell proliferation via extracellular signal-regulated kinase activation. Circulation 109: 2911–2916
Day SM, Reeve JL, Pedersen B et al. (2005) Macrovascular thrombosis is driven by tissue factor derived primarily from the blood vessel wall. Blood 105: 192–198
Dietzen DJ, Page KL, Tetzloff TA (2004) Lipid rafts are necessary for tonic inhibition of cellular tissue factor procoagulant activity. Blood 103: 3038–3044
Dignat-George F, Camoin-Jau L, Sabatier F et al. (2004) Endothelial microparticles: a potential contribution to the thrombotic complications of the antiphospholipid syndrome. Thromb Haemost 91: 667–673
Dorfleutner A, Ruf W (2003) Regulation of tissue factor cytoplasmic domain phosphorylation by palmitoylation. Blood 102: 3998–4005
Dorfleutner A, Hintermann E, Tarui T et al. (2004) Cross-talk of integrin alpha3beta1 and tissue factor in cell migration. Mol Biol Cell 15: 4416–4425
Drake TA, Ruf W, Morrissey JH et al. (1989) Functional tissue factor is entirely cell surface expressed on lipopolysaccharide-stimulated human blood monocytes and a constitutively tissue factor-producing neoplastic cell line. J Cell Biol 109: 389–395
Drake TA, Hannani K, Fei HH et al. (1991) Minimally oxidized low-density lipoprotein induces tissue factor expression in cultured human endothelial cells. Am J Pathol 138: 601–607
Eddleston M, de la Torre JC, Oldstone MB et al. (1993) Astrocytes are the primary source of tissue factor in the murine central nervous system. A role for astrocytes in cerebral hemostasis. J Clin Invest 92: 349–358
Eigenbrot C, Kirchhofer D, Dennis MS et al. (2001) The factor VII zymogen structure reveals reregistration of beta strands during activation. Structure 9: 627–636
Eto M, Kozai T, Cosentino F et al. (2002) Statin prevents tissue factor expression in human endothelial cells: role of Rho/Rho-kinase and Akt pathways. Circulation 105: 1756–1759
Faulk WP, Labarrere CA, Carson SD (1990) Tissue factor: identification and characterization of cell types in human placentae. Blood 76: 86–96
Fisher KL, Gorman CM, Vehar GA et al. (1987) Cloning and expression of human tissue factor cDNA. Thromb Res 48: 89–99
Fleck RA, Rao LV, Rapaport SI et al. (1990) Localization of human tissue factor antigen by immunostaining with monospecific, polyclonal anti-human tissue factor antibody. Thromb Res 59: 421–437
Flossel C, Luther T, Muller M et al. (1994) Immunohistochemical detection of tissue factor (TF) on paraffin sections of routinely fixed human tissue. Histochemistry 101: 449–453
Giesen PL, Rauch U, Bohrmann B et al. (1999) Blood-borne tissue factor: another view of thrombosis. Proc Natl Acad Sci USA 96: 2311–2315
Hagen FS, Gray CL, O'Hara P et al. (1986) Characterization of a cDNA coding for human factor VII. Proc Natl Acad Sci USA 83: 2412–2416
Hamada K, Kuratsu J, Saitoh Y (1996) Expression of tissue factor correlates with grade of malignancy in human glioma. Cancer 77: 1877–1883
Han LY, Landen CN Jr, Kamat AA et al. (2006) Preoperative serum tissue factor levels are an independent prognostic factor in patients with ovarian carcinoma. J Clin Oncol 24: 755–761
Harlos K, Martin DM, O'Brien DP et al. (1994) Crystal structure of the extracellular region of human tissue factor. Nature 370: 662–6666
Hatakeyama K, Asada Y, Marutsuka K et al. (1998) Expression of tissue factor in the rabbit aorta after balloon injury. Atherosclerosis 139: 265–271
Himber J, Wohlgensinger C, Roux S et al. (2003) Inhibition of tissue factor limits the growth of venous thrombus in the rabbit. J Thromb Haemost 1: 889–895
Huang X, Ding WQ, Vaught JL et al. (2006) A soluble tissue factor-annexin V chimeric protein has both procoagulant and anticoagulant properties. Blood 107: 980–986
Kakkar AK, Lemoine NR, Scully MF et al. (1995) Tissue factor expression correlates with histological grade in human pancreatic cancer. Br J Surg 82: 1101–1104
Kislinger T, Tanji N, Wendt T et al. (2001) Receptor for advanced glycation end products mediates inflammation and enhanced expression of tissue factor in vasculature of diabetic apolipoprotein E-null mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol 21: 905–910
Kopp CW, Steiner S, Nasel C et al. (2003) Abciximab reduces monocyte tissue factor in carotid angioplasty and stenting. Stroke 34: 2560–2567
Kushak RI, Nestoridi E, Lambert J et al. (2005) Detached endothelial cells and microparticles as sources of tissue factor activity. Thromb Res 116: 409–419
Leroyer AS, Tedgui A, Boulanger CM (2008) Role of microparticles in atherothrombosis. J Intern Med 263: 528–537
Lim HS, Blann AD, Lip GY (2004) Soluble CD40 ligand, soluble P-selectin, interleukin-6, and tissue factor in diabetes mellitus: relationships to cardiovascular disease and risk factor intervention. Circulation 109: 2524–2528
Llorente-Cortes V, Otero-Vinas M, Camino-Lopez S et al. (2004) Aggregated low-density lipoprotein uptake induces membrane tissue factor procoagulant activity and microparticle release in human vascular smooth muscle cells. Circulation 110: 452–459
Lupu C, Westmuckett AD, Peer G et al. (2005) Tissue factor-dependent coagulation is preferentially up-regulated within arterial branching areas in a baboon model of Escherichia coli sepsis. Am J Pathol 167: 1161–1172
Mackman N (1995) Regulation of the tissue factor gene. Faseb J 9: 883–889
Mackman N (1997) Regulation of the tissue factor gene. Thromb Haemost 78: 747–754
Mackman N (2005) Tissue-specific hemostasis in mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol 25: 2273–2281
Mackman N, Sawdey MS, Keeton MR et al. (1993) Murine tissue factor gene expression in vivo. Tissue and cell specificity and regulation by lipopolysaccharide. Am J Pathol 143: 76–84

Malarstig A, Tenno T, Johnston N et al. (2005) Genetic variations in the tissue factor gene are associated with clinical outcome in acute coronary syndrome and expression levels in human monocytes. Arterioscler Thromb Vasc Biol 25: 2667–2672

Mallat Z, Benamer H, Hugel B et al. (2000) Elevated levels of shed membrane microparticles with procoagulant potential in the peripheral circulating blood of patients with acute coronary syndromes. Circulation 101: 841–843

Mandal SK, Pendurthi UR, Rao LV (2007) Tissue factor trafficking in fibroblasts: involvement of protease activated receptor-mediated cell signaling. Blood 110: 161–170

Marutsuka K, Hatakeyama K, Sato Y et al. (2002) Protease activated receptor 2 (PAR2) mediates vascular smooth muscle cell migration induced by tissue factor/factor VIIa complex. Thromb Res 107: 271–276

Matetzky S, Tani S, Kangavari S et al. (2000) Smoking increases tissue factor expression in atherosclerotic plaques: implications for plaque thrombogenicity. Circulation 102: 602–604

McCallum CD, Su B, Neuenschwander PF et al. (1997) Tissue factor positions and maintains the factor VIIa active site far above the membrane surface even in the absence of the factor VIIa Gla domain. A fluorescence resonance energy transfer study. J Biol Chem 272: 30160–30166

Mesri M, Altieri DC (1998) Endothelial cell activation by leukocyte microparticles. J Immunol 161: 4382–4387

Mesri M, Altieri DC (1999) Leukocyte microparticles stimulate endothelial cell cytokine release and tissue factor induction in a JNK1 signaling pathway. J Biol Chem 274: 23111–23118

Misumi K, Ogawa H, Yasue H et al. (1998) Comparison of plasma tissue factor levels in unstable and stable angina pectoris. Am J Cardiol 81: 22–26

Mody RS, Carson SD (1997) Tissue factor cytoplasmic domain peptide is multiply phosphorylated in vitro. Biochemistry 36: 7869–7875

Molero L, Lopez-Farre A, Mateos-Caceres PJ et al. (2005) Effect of clopidogrel on the expression of inflammatory markers in rabbit ischemic coronary artery. Br J Pharmacol 146: 419–424

Moons AH, Peters RJ, Bijsterveld NR et al. (2003) Recombinant nematode anticoagulant protein c2, an inhibitor of the tissue factor/factor VIIa complex, in patients undergoing elective coronary angioplasty. J Am Coll Cardiol 41: 2147–2153

Morris DR, Ding Y, Ricks TK (2006) Protease activated receptor-2 is essential for factor VIIa and Xa-induced signaling, migration, and invasion of breast cancer cells. Cancer Res 66: 307–314

Morrissey JH, Fakhrai H, Edgington TS (1987) Molecular cloning of the cDNA for tissue factor, the cellular receptor for the initiation of the coagulation protease cascade. Cell 50: 129–135

Mulder AB, Smit JW, Bom VJ et al. (1996) Association of smooth muscle cell tissue factor with caveolae. Blood 88: 1306–13

Muller YA, Ultsch MH, de Vos AM (1996) The crystal structure of the extracellular domain of human tissue factor refined to 1.7 A resolution. J Mol Biol 256: 144–159

Nakamura S, Imamura T, Okamoto K (2004) Tissue factor in neutrophils: yes. J Thromb Haemost 2: 214–217

Nemerson Y, Bach R (1982) Tissue factor revisited. Prog Hemost Thromb 6: 237–261

Oka N, Yamamoto N, Schwencke C et al. (1997) Caveolin interaction with protein kinase c. Isoenzyme-dependent regulation of kinase activity by the caveolin scaffolding domain peptide. J Biol Chem 272: 33416–33421

Olivero AG, Eigenbrot C, Goldsmith R et al. (2005) A selective, slow binding inhibitor of factor VIIa binds to a nonstandard active site conformation and attenuates thrombus formation in vivo. J Biol Chem 280: 9160–9169

Ollivier V, Chabbat J, Herbert JM (2000) Vascular endothelial growth factor production by fibroblasts in response to factor VIIa binding to tissue factor involves thrombin and factor Xa. Arterioscler Thromb Vasc Biol 20: 1374–1381

Osnes LT, Foss KB, Joo GB et al. (1996) Acetylsalicylic acid and sodium salicylate inhibit LPS-induced NF-kappa B/c-Rel nuclear translocation, and synthesis of tissue factor (TF) and tumor necrosis factor alfa (TNF-alpha) in human monocytes. Thromb Haemost 76: 970–976

Osterud B (2004) Tissue factor in neutrophils: no. J Thromb Haemost 2: 218–220

Ott I, Fischer EG, Miyagi Y et al. (1998) A role for tissue factor in cell adhesion and migration mediated by interaction with actin binding protein 280. J Cell Biol 140: 1241–1253

Ott I, Andrassy M, Zieglgansberger D et al. (2001) Regulation of monocyte procoagulant activity in acute myocardial infarction: role of tissue factor and tissue factor pathway inhibitor-1. Blood 97: 3721–3726

Ott I, Michaelis C, Schuermann M et al. (2005a) Vascular remodeling in mice lacking the cytoplasmic domain of tissue factor. Circ Res 97: 293–298

Ott I, Weigand B, Michl R et al. (2005b) Tissue factor cytoplasmic domain stimulates migration by activation of the GTPase Rac1 and the mitogen activated protein kinase p38. Circulation 111: 349–355

Pendurthi UR, Alok D, Rao LV (1997) Binding of factor VIIa to tissue factor induces alterations in gene expression in human fibroblast cells: up-regulation of poly(A) polymerase. Proc Natl Acad Sci USA 94: 12598–12603

Persson E (2006) Macromolecular substrate affinity for free factor VIIa is independent of a buried protease domain N-terminus. Biochem Biophys Res Commun 341: 28–32

Pitlick FA (1975) Concanavalin A inhibits tissue factor coagulant activity. J Clin Invest 55: 175–159

Rand KD, Jorgensen TJ, Olsen OH et al. (2006) Allosteric activation of coagulation factor VIIa visualized by hydrogen exchange. J Biol Chem 281: 23018–23024

Rauch U, Antoniak S (2007) Tissue factor-positive microparticles in blood associated with coagulopathy in cancer. Thromb Haemost 97: 9–10

Rehemtulla A, Ruf W, Edgington TS (1991) The integrity of the cysteine 186-cysteine 209 bond of the second disulfide loop of tissue factor is required for binding of factor VII. J Biol Chem 266: 10294–10299

Riewald M, Ruf W (2001) Mechanistic coupling of protease signaling and initiation of coagulation by tissue factor. Proc Natl Acad Sci USA 98: 7742–7747

Roque M, Reis ED, Fuster V et al. (2000) Inhibition of tissue factor reduces thrombus formation and intimal hyperplasia after porcine coronary angioplasty. J Am Coll Cardiol 36: 2303–2310

Rosen ED, Chan JC, Idusogie E et al. (1997) Mice lacking factor VII develop normally but suffer fatal perinatal bleeding. Nature 390: 290–294

Ruf W, Rehemtulla A, Morrissey JH et al. (1991) Phospholipid-independent and -dependent interactions required for tissue factor receptor and cofactor function. J Biol Chem 266: 2158–2166

Sambola A, Osende J, Hathcock J (2003) Role of risk factors in the modulation of tissue factor activity and blood thrombogenicity. Circulation 107: 973–977

Sawada M, Miyake S, Ohdama S et al. (1999) Expression of tissue factor in non-small-cell lung cancers and its relationship to metastasis. Br J Cancer 79: 472–477

Scarpati EM, Wen D, Broze GJ Jr et al. (1987) Human tissue factor: cDNA sequence and chromosome localization of the gene. Biochemistry 26: 5234–5238

Schwertz H, Tolley ND, Foulks JM et al. (2006) Signal-dependent splicing of tissue factor pre-mRNA modulates the thrombogenicity of human platelets. J Exp Med 203: 2433–2440

Seljeflot I, Hurlen M, Arnesen H (2004) Increased levels of soluble tissue factor during long-term treatment with warfarin in patients after an acute myocardial infarction. J Thromb Haemost 2: 726–730

Sethi AS, Lees DM, Douthwaite JA et al. (2005) Factor VIIa stimulates endothelin-1 synthesis in TNF-primed endothelial cells by activation of protease activated receptor 2. Clin Sci (Lond) 108: 255–263

Seto S, Onodera H, Kaido T et al. (2000) Tissue factor expression in human colorectal carcinoma: correlation with hepatic metastasis and impact on prognosis. Cancer 88: 295–301

Shet AS, Aras O, Gupta K et al. (2003) Sickle blood contains tissue factor-positive microparticles derived from endothelial cells and monocytes. Blood 102: 2678–2683

Smith NL, Hindorff LA, Heckbert SR et al. (2007) Association of genetic variations with nonfatal venous thrombosis in postmenopausal women. Jama 297: 489–498

Soejima H, Ogawa H, Yasue H et al. (1999a) Angiotensin-converting enzyme inhibition reduces monocyte chemoattractant protein-1 and tissue factor levels in patients with myocardial infarction. J Am Coll Cardiol 34: 983–988

Soejima H, Ogawa H, Yasue H et al. (1999b) Heightened tissue factor associated with tissue factor pathway inhibitor and prognosis in patients with unstable angina. Circulation 99: 2908–2913

Spicer EK, Horton R, Bloem L et al. (1987) Isolation of cDNA clones coding for human tissue factor: primary structure of the protein and cDNA. Proc Natl Acad Sci USA 84: 5148–5152

Steppich B, Mattisek C, Sobczyk D et al. (2005) Tissue factor pathway inhibitor on circulating microparticles in acute myocardial infarction. Thromb Haemost 93: 35–39

Suleymanov OD, Szalony JA, Salyers AK et al. (2003) Pharmacological interruption of acute thrombus formation with minimal hemorrhagic complications by a small molecule tissue factor/factor VIIa inhibitor: comparison to factor Xa and thrombin inhibition in a nonhuman primate thrombosis model. J Pharmacol Exp Ther 306: 1115–1121

Szalony JA, Suleymanov OD, Salyers Ak et al. (2003) Administration of a small molecule tissue factor/factor VIIa inhibitor in a non-human primate thrombosis model of venous thrombosis: effects on thrombus formation and bleeding time. Thromb Res 112: 167–174

Szotowski B, Antoniak S, Poller W et al. (2005) Procoagulant soluble tissue factor is released from endothelial cells in response to inflammatory cytokines. Circ Res 96: 1233–1239

Taylor FB Jr, Chang A, Ruf W et al. (1991a) Lethal E. coli septic shock is prevented by blocking tissue factor with monoclonal antibody. Circ Shock 33: 127–134

Taylor FB Jr, Chang Ac, Peer GT et al. (1991b) DEGR-factor Xa blocks disseminated intravascular coagulation initiated by Escherichia coli without preventing shock or organ damage. Blood 78: 364–368

Ueno T, Toi M, Koike M et al. (2000) Tissue factor expression in breast cancer tissues: its correlation with prognosis and plasma concentration. Br J Cancer 83: 164–170

van den Besselaar AM, Bertina RM (1984) Interaction of thromboplastin apoprotein of different tissues with concanavalin A – evidence for heterogeneous glycosylation of the human apoprotein. Thromb Haemost 52: 192–195

van der Logt CP, Reitsma PH, Bertina RM (1992) Alternative splicing is responsible for the presence of two tissue factor mRNA species in LPS stimulated human monocytes. Thromb Haemost 67: 272–276

Venkateswarlu D, Duke RE, Perera L et al. (2003) An all-atom solution-equilibrated model for human extrinsic blood coagulation complex (sTF-VIIa-Xa): a protein-protein docking and molecular dynamics refinement study. J Thromb Haemost 1: 2577–2588

Viswambharan H, Ming XF, Zhu S et al. (2004) Reconstituted high-density lipoprotein inhibits thrombin-induced endothelial tissue factor expression through inhibition of RhoA and stimulation of phosphatidylinositol 3-kinase but not Akt/endothelial nitric oxide synthase. Circ Res 94: 918–925

Wang X, Gjernes E, Prydz H (2002) Factor VIIa induces tissue factor-dependent up-regulation of interleukin-8 in a human keratinocyte line. J Biol Chem 277: 23620–23626

Waters EK, Morrissey JH (2006) Restoring full biological activity to the isolated ectodomain of an integral membrane protein. Biochemistry 45: 3769–3774

Wilcox JN, Smith KM, Schwartz SM et al. (1989) Localization of tissue factor in the normal vessel wall and in the atherosclerotic plaque. Proc Natl Acad Sci USA 86: 2839–2843

Wildgoose P, Jorgensen T, Komiyama Y (1992) The role of phospholipids and the factor VII Gla-domain in the interaction of factor VII with tissue factor. Thromb Haemost 67: 679–85

Wolberg AS, Monroe DM, Roberts HR et al. (1999) Tissue factor de-encryption: ionophore treatment induces changes in tissue factor activity by phosphatidylserine-dependent and -independent mechanisms. Blood Coagul Fibrinolysis 10: 201–210

Young WB, Mordenti J, Torkelson S et al. (2006) Factor VIIa inhibitors: chemical optimization, preclinical pharmacokinetics, pharmacodynamics, and efficacy in an arterial baboon thrombosis model. Bioorg Med Chem Lett 16: 2037–2041

Zioncheck TF, Roy S, Vehar GA (1992) The cytoplasmic domain of tissue factor is phosphorylated by a protein kinase c-dependent mechanism. J Biol Chem 267: 3561–3564

## 15.2 Tissue Factor Pathway Inhibitor (TFPI)

*B. A. Steppich, I. Ott*



### Einleitung

In Anbetracht des enormen Amplifizierungspotenzials der TF-abhängigen Gerinnungskaskade wurde schon früh die Existenz eines endogenen Inhibitors postuliert, der die TF-Aktivität kontrolliert. Anfang der 1950er-Jahre konnte erstmals die Existenz eines solchen Inhibitors experimentell belegt werden (Biggs u. Mac 1951). Das Ziel, gegen das die inhibitorische Aktivität gerichtet ist, der TF-FVIIa-FXa-Komplex , wurde 1957 von Hjort identifiziert (Hjort 1957). Erst rund 30 Jahre später gelang schließlich die Isolierung und Klonierung des Inhibitors (Broze et al. 1987; Wun et al. 1988).

TFPI ist der wichtigste endogene Inhibitor der TF-abhängigen, extrinsischen Gerinnungskaskade. Nachdem TF im Komplex mit FVIIa die extrinsische Gerinnungskaskade ausgelöst hat, bindet TFPI in Abhängigkeit von FXa kompetitiv den TF-FVIIa-Komplex, neutralisiert dessen katalytische Aktivität und limitiert so die initiale Bildung von Thrombin. Erst wenn durch positive Rückkopplungsmechanismen über den intrinsischen Gerinnungsweg unabhängig von TF zusätzlich FXa gebildet wird, kommt es zur unlimitierten Prothrombinaktivierung. TFPI vermittelt so einen endogenen Schwellenwert, der überschritten werden muss, bevor eine ausreichende Thrombinbildung resultieren kann. Auf diese Weise ist sichergestellt, dass kleine, irrelevante prothrombotische Stimuli nicht in einer unkontrollierten Gerinnungsamplifizierung enden.

### 15.2.1 Struktur

TFPI ist ein Glykoprotein, das zur Klasse der Kunitz-Typ-Proteaseinhibitoren gehört. Es besteht aus 3 Kunitz-Domänen, die tandemartig hintereinander angeordnet sind, sowie einer negativ geladenen N-terminalen Region und einem positiv geladenen C-Terminus. Kunitz-Typ-Proteaseinhibitoren imitieren das Substrat der Zielprotease. Nach erfolgreicher Bindung an das reaktive Zentrum gelingt es der Protease jedoch nicht, die P1-P1′-Peptidbindung effektiv zu spalten, wodurch die Protease kompetitiv und reversibel inhibiert wird.

Die reaktive Peptidbindung im Zentrum der 1. Kunitz-Domäne (K1) von TFPI wird durch Lysin-Alanin gebildet. Wie man durch zielgerichtete Mutagenese weiß, interagiert K1 mit dem TF-FVIIa-Komplex, indem sie ionisch an das aktive Zentrum von FVIIa bindet. Die 2. Kunitz-Domäne (K2) inhibiert mit ihrem reaktiven Zentrum (Arginin-Glycin) aktivierten FX (Girard et al. 1989a; Petersen et al. 1996). Trotz der ausgeprägten Homologie der 3. Kunitz-Domäne (K3) zu K1 und K2 ist ihre exakte Rolle im Einzelnen noch nicht geklärt. Obwohl K3 nicht direkt mit dem TF-FVIIa-Komplex oder FXa interagiert, besitzen Isoformen, die im Bereich von K3 trunkiert sind, ähnlich wie C-terminal fragmentierte TFPI-Formen, ein deutlich geringeres inhibitorisches Potenzial (Wesselschmidt et al. 1992; Petersen et al. 1996). Eine mögliche Erklärung hierfür könnte eine gestörte Interaktion mit Protein S, aber auch Heparin sein, für deren Bindung eine intakte K3-Domäne ebenso wie ein intakter C-Terminus essenziell sind. Erst vor Kurzem wurde gezeigt, dass Protein S die FXa-Inhibition durch TFPI als Kofaktor katalysiert (Hackeng et al. 2006). Auch Heparin scheint die Interaktion von TFPI und FXa zu verstärken, indem es beide Partner gleichzeitig bindet und in enge räumliche Nähe zueinander bringt (Wesselschmidt et al. 1993).

Insgesamt besitzt TFPI 2 Heparinbindungsstellen, eine im Bereich positiv geladener Lysin-Residuen (Lys213, Lys214, Lys215) der 3. Kunitz-Domäne sowie eine weitere im Bereich des basischen C-Terminus (Mine et al. 2002). Die 3. Kunitz-Domäne ist darüber hinaus für eine optimale Bindung von TFPI an Zelloberflächen verantwortlich. Insbesondere die gezielte Mutation des P1-Restes (R199) reduziert dramatisch die ionische Bindungsfähigkeit an Zellmembranen (Piro u. Broze 2004). Daneben vermitteln die C-terminalen basischen Aminosäuren die Bindung an Glykosaminoglykane der Zellmembran. Die Assoziation von TFPI mit Zelloberflächen beeinflusst ebenfalls sein inhibitorisches Potenzial. Daneben kann die C-terminale Region von TFPI eine Vielzahl anderer Liganden binden, wie etwa Lipoproteine, Protein S, Thrombospondin und Heparin (Valentin et al. 1993; Mast et al. 2000).

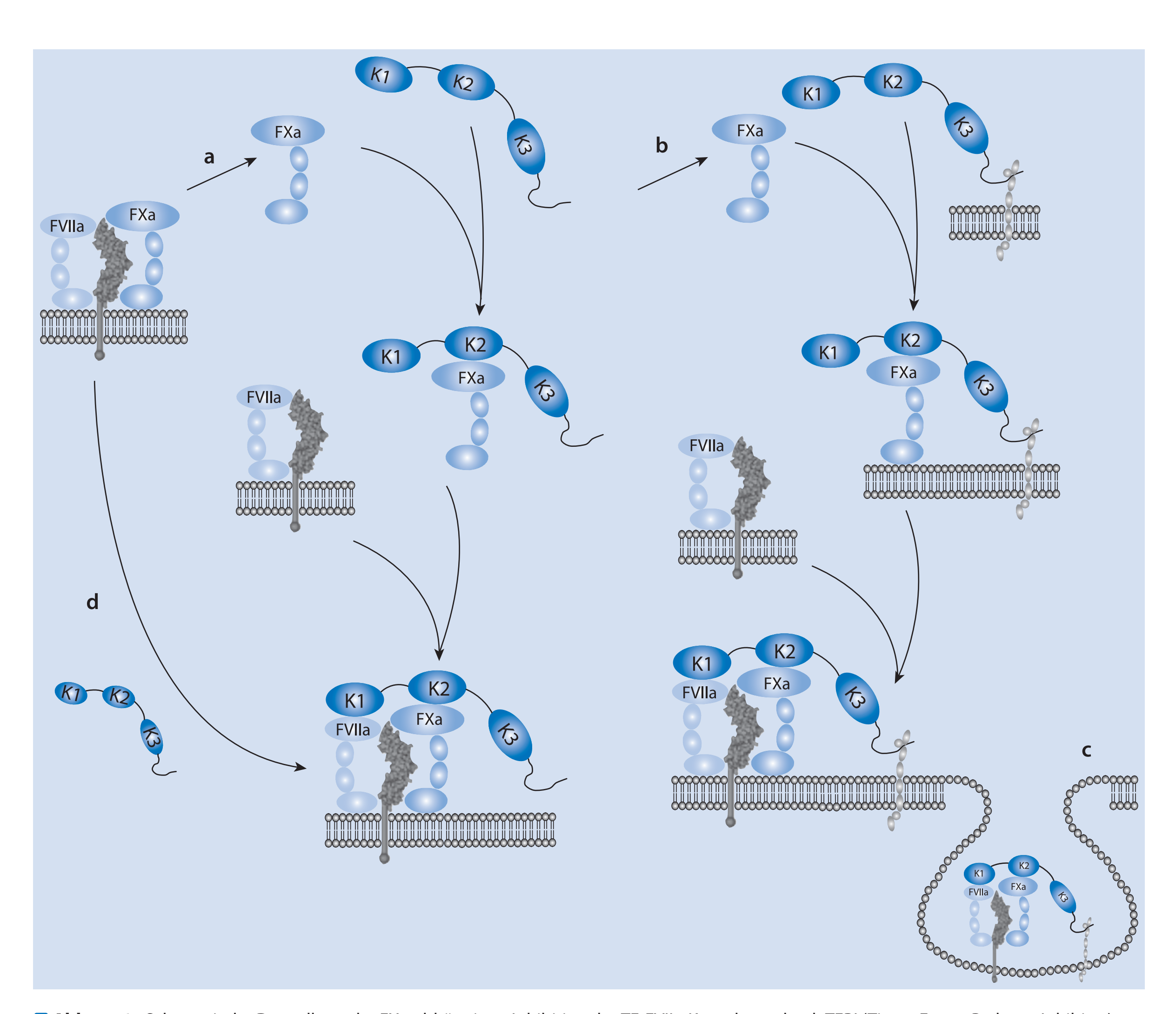
### 15.2.2 Funktion

#### FXa-abhängige Hemmung des TF-FVIIa-Komplexes

Die zentrale Funktion von TFPI liegt in der FXa-vermittelten Hemmung des TF-FVIIa-Komplexes. Die Hemmung des TF-FVIIa-FXa-Komplexes wird meist als sequenzieller Prozess in 2 Schritten beschrieben (◘ Abb. 15.6).

Zunächst interagiert TFPI ionisch und reversibel mit freiem FXa, wobei der P1-Rest der 2. Kunitz-Domäne direkt an das aktive Zentrum von FXa oder in unmittelbarer Nähe hiervon bindet. Wie bereits erwähnt, wird diese Interaktion durch die Anwesenheit der 1. und 3. Kunitz-Domäne sowie des basischen C-Terminus verstärkt, die zwar nicht direkt mit FXa interagieren, die Reaktion jedoch auf noch nicht ganz verstandene Weise beschleunigen.

Im Gegensatz zu vielen anderen Gerinnungsreaktionen sind Kalziumionen für diesen Schritt nicht essenziell. Dennoch verstärkt ihre Anwesenheit im Verbund mit Membranphospholipiden die Ausbildung des bimolekularen Komplexes zwischen FXa und TFPI (Huang et al. 1993). Anschließend bindet der TFPI-FXa-Komplex an TF-FVIIa




◘ **Abb. 15.6.** Schematische Darstellung der FXa-abhängigen Inhibition des TF-FVIIa-Komplexes durch TFPI (Tissue Factor Pathway Inhibitor). Im Verlauf der extrinsischen Gerinnungskaskade bindet FX den Komplex aus TF-FVIIa und wird hierbei durch limitierte Proteolyse aktiviert. Nach Aktivierung kann FXa vom TF-VIIa-Komplex wieder abdissoziieren und entweder in den Prothrombinasekomplex integrieren, um zur Gerinnung beizutragen, oder aber FXa wird durch löslichen (**a**) oder Membran-gebundenen TFPI (**b**) inaktiviert. Hierbei interagiert die 2. Kunitz-Domäne (*K2*) mit FXa. Dieser Komplex kann nun via 1. Kunitz-Domäne (*K1*) an das aktive Zentrum von FVIIa binden, sodass es zur Ausbildung des katalytisch inaktiven Komplexes aus TFPI-FXa-TF-FVIIa kommt. Liegt TFPI membrangebunden vor, kann konsekutiv die ligandeninduzierte Translokation des quaternären Komplexes aus TFPI-FXa-TF-FVIIa in glykosphingolipidreiche Mikroinvaginationen der Zellmembran, sogenannte Caveolen, erfolgen. Hierdurch ist der quaternäre Komplex auch räumlich sequestriert (**c**). Neuere kinetische Experimente deuten darauf hin, dass TFPI schon mit FXa interagiert, bevor dieser vom TF-VIIa Komplex dissoziiert (**d**)

und neutralisiert dessen katalytische Aktivität. Hierbei interagiert der P1-Rest der 1. Kunitz-Domäne direkt mit dem aktiven Zentrum von FVIIa. Für die Ausbildung dieses Komplexes sind Kalziumionen nun obligater Bestandteil. Der Kontakt des TFPI-FXa-Komplexes zur Zellmembran potenziert seine inhibitorische Aktivität gegenüber TF-VIIa.

Somit weist nicht nur zellassoziierter TFPI eine wesentlich höhere antikoagulatorische Potenz auf, sondern auch FXa fördert über seine Membranbindungsdomäne entscheidend eine effiziente Hemmung des TF-Komplexes. TFPI kann den Komplex aus TF und FVIIa zwar auch unabhängig von FXa inhibieren – um eine vergleichbare Hemmung zu erzielen, sind jedoch 50-fach höhere Konzentrationen von TFPI nötig als in Anwesenheit von FXa. Daher scheint die direkte, von FXa unabhängige TF-FVIIa-Inhibition unter physiologischen Bedingungen keine Relevanz zu besitzen. Sie könnte jedoch im Falle eines therapeutischen Einsatzes von rekombinantem TFPI von Bedeutung sein (Girard u. Broze 1993). Als Konsequenz dieser FXa-Abhängigkeit kann TFPI seine antikoagulatorische Wirkung erst entfalten, nachdem die initiale Phase der TF-induzierten Gerinnungskaskade abgelaufen ist und bereits FXa gebildet wurde.

Obwohl die Reaktion meist als Zwei-Stufen-Prozess beschrieben wird, bei dem TFPI zuerst freien FXa und dann sequenziell TF-FVIIa bindet, deuten kinetische Experimente darauf hin, dass TFPI schon mit FXa interagiert, bevor dieser vom TF-FVIIa-Komplex dissoziiert (Lu et al. 2004). Letztendlich resultiert jedoch stets der TFPI-FXa-TF-FVIIa-Komplex, der keine katalytische Aktivität gegenüber FX und FIX besitzt. Liegt der quaternäre Komplex membranassoziiert vor, kann konsekutiv die ligandeninduzierte Translokation von TFPI-FXa-TF-FVIIa in glykosphingolipidreiche Mikroinvaginationen der Zellmembran, sogenannte Caveolae, erfolgen (Sevinsky et al. 1996; Ott et al. 2000). Auch wenn die antikoagulatorische Funktion des Komplexes hierdurch per se nicht beeinträchtigt wird, ist die proteolytische Aktivität zumindest räumlich von der Umgebung sequestriert. Ob diese Translokation in vivo optional stattfindet oder essenzieller Bestandteil einer effektiven Inhibition durch TFPI ist, ist noch unklar.

TFPI hemmt somit den Ablauf der TF-abhängigen Gerinnungskaskade. Nur wenn über den intrinsischen Weg TF-unabhängig ausreichend FXa gebildet wird, kann es zur Progression der Gerinnungskaskade und zur unlimitierten Thrombinbildung kommen. Erst durch die Entdeckung von TFPI wurde verständlich, warum Patienten mit Hämophilie trotz intakten extrinsischen Gerinnungsweges bluten können. Die Menge an FXa muss das endogene inhibitorische Potenzial von TFPI im Sinne eines Schwellenwertes überschreiten, bevor die TF-induzierte Gerinnungskaskade fortschreiten kann. Sobald FXa mit FVa in den Prothrombinasekomplex integriert ist, ist er einer Hemmung durch TFPI nicht mehr zugänglich (Mast u. Broze 1996). TFPI stellt hierdurch sicher, dass ein kleiner prokoagulatorischer Stimulus nicht in einer unkontrollierten Amplifizierung der Thrombinbildung endet.

#### Hemmung TF-induzierter Signalwege

Zelluläre Signaltransduktion und Gerinnungsaktivierung sind über verschiede Interaktionen vernetzt. Die Bindung von FVIIa an TF aktiviert Signalwege in Monozyten, Endothelzellen, Fibroblasten, Keratinozyten sowie Blasenkarzinom- und Mammakarzinomzelllinien. Dabei werden PAR-Rezeptoren aktiviert. Bei der FVIIa- und FXa-induzierten Signaltransduktion ist insbesondere PAR-2 von Bedeutung, weiterhin wird durch PAR-2-Aktivierung die Phosphorylierung der zytoplasmatischen Domäne von TF erhöht. PAR-1-vermittelte Signalwege werden durch FXa oder TF-FVIIa-FXa aktiviert und sind unabhängig von der zytoplasmatischen Domäne von TF.

Erst vor Kurzem fanden sich Hinweise dafür, dass TFPI die TF-induzierte PAR-1-und-2-Aktivierung hemmt und so konsekutiv in die Regulation TF-induzierter Signaltransduktionsprozesse eingebunden ist. In Endothelzellen hemmt TFPI so die Phosphorylierung der Kinasen ERK (»extracellulär-signal regulated kinase«), FAK (»focal adhesion kinase«) und PAX (Paxillin; Provencal et al. 2008). Hierdurch moduliert TFPI Prozesse der Angiogenese, Entzündung, Proliferation und Migration. Die hierfür benötigten TFPI-Konzentrationen überschreiten jedoch diejenigen, die für eine effiziente FXa-Hemmung benötigt werden. Insbesondere die PAR-1-vermittelte Signaltransduktion erweist sich als wesentlich unsensitiver gegenüber einer Hemmung durch TFPI als die durch PAR-2 vermittelte (Ahamed et al. 2005). Diese Dissoziation von antikoagulatorischem Potenzial und Hemmung von Signaltransduktionswegen muss insbesondere im Falle eines therapeutischen Einsatzes von rekombinantem TFPI bedacht werden.

### 15.2.3 Molekularbiologie

#### TFPI-1-Genom

Das Gen für humanen TFPI ist auf dem langen Arm von Chromosom 2 (2q31-q32.1) lokalisiert. Es besteht aus 9 Exons, separiert durch 8 Introns, und umspannt über 85 kbp (Girard et al. 1991; Enjyoji et al. 1993; van der Logt et al. 1991; van der Logt et al. 1992). Die komplette cDNA von humanem TFPI sowie rund 2.228 bp der 5'-flankierenden Region sind bekannt. Über die Hälfte des Gens wird von 5'-nichttranslatierten Elementen eingenommen, die Exon 1 und 2 sowie 2 25 und 20 kbp große Intronsequenzen umfassen. Die kodierende Region beginnt ab Exon 3, das die Information für das Signalpeptid sowie die N-terminale Domäne des reifen TFPI-Genproduktes birgt.

15

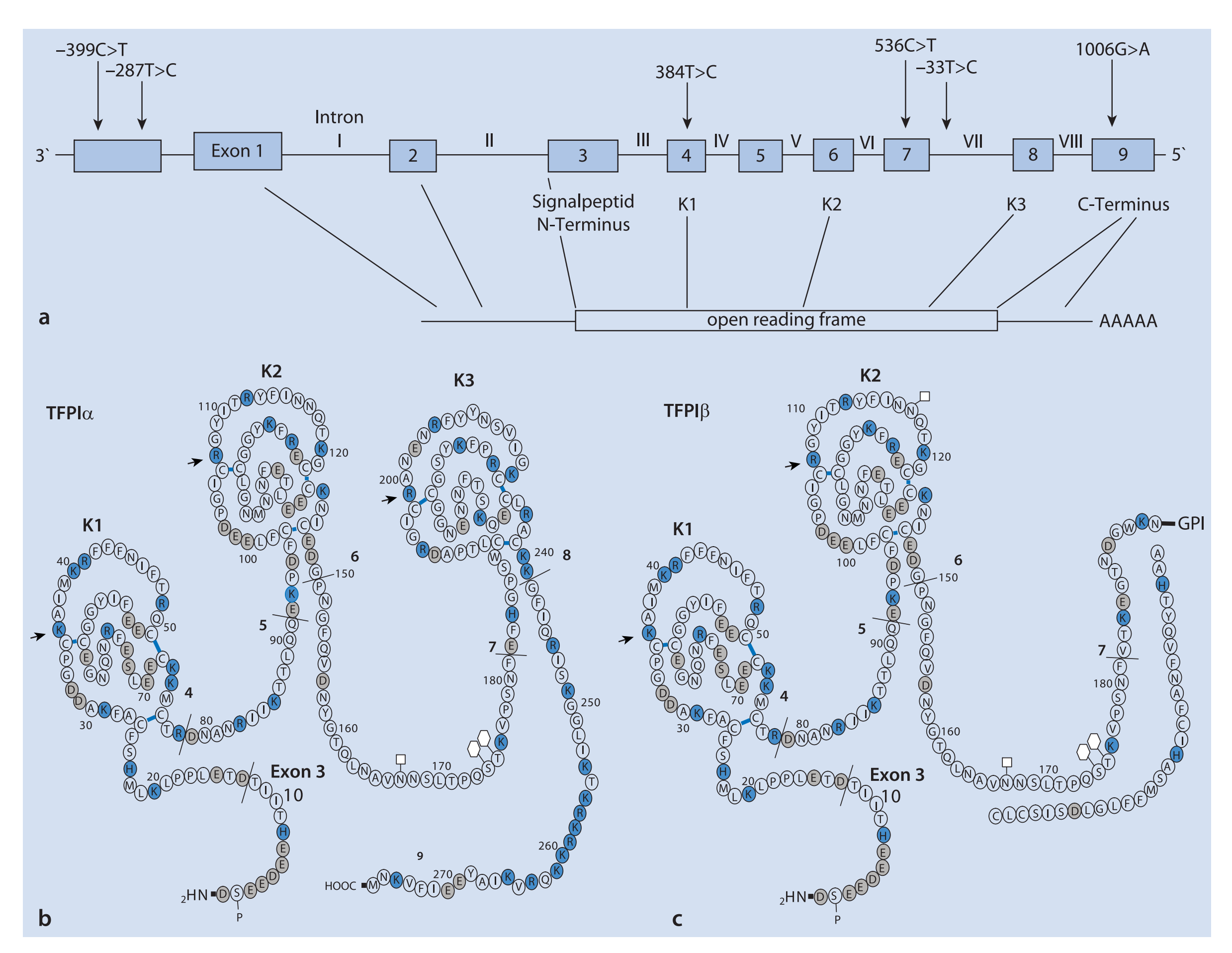



**Abb. 15.7a–c.** TFPI-Genom und -Proteom. **a** Schematische Darstellung des TFPI-Genlokus. Neun Exons (*1–9*) werden separiert durch 8 Introns (*I–VIII*). Die Exons 4, 6 und 8 kodieren jeweils die Kunitz-Domänen 1 (*K1*), 2 (*K2*) und 3 (*K3*). Die translatierte Region umfasst Exon 3 bis 9. Die derzeit bekannten Polymorphismen sind jeweils mit *Pfeilen* markiert. **b, c** Schematisches Darstellungen der Proteine TFPI α (**b**) und TFPI β (**c**). Die Kunitz-Domänen (*K1–3*) sind mit ihren Disulfidbindungen (*dunkelblaue Striche*) und P1-Resten (*Pfeile*) dargestellt. Die Grenzen der einzelnen Exons sind jeweils durch *schwarze Striche* markiert und durchnummeriert (*3–9*). *Hellblau* saure Aminosäuren; *Grau* basische Aminosäuren; *Quadrate* N-verknüpfte Glykosilierungsstellen; *Sechsecke* O-verknüpfte Glykosilierungsstellen; *TFPI* Tissue Factor Pathway Inhibitor

Es folgen die 3 Kunitz-Typ-Domänen, die jeweils von 1 Exon, den Exons 4, 6 und 8 kodiert werden. Exon 5 und 7 verschlüsseln die Aminosäuren zwischen den Kunitz-Typ-Domänen. Die C-terminale TFPI-Domäne sowie die gesamte 3'-nichttranslatierte Region werden von Exon 9 kodiert (Abb. 15.7).

Über die Promotorregion des TFPI-Gens sowie seine transkriptionelle Regulation ist bisher relativ wenig bekannt. Sequenzanalysen der 5'-flankierenden Region konnten keine prototypische TATAA-Box oder CCAAT-Konsensussequenz nachweisen. Vielmehr fanden sich mehrere potenzielle Transkriptionsstartstellen (major +1, +7, +29; minor -16, -21,-25). Insgesamt sind 6 GATA-, 2 NF-κ1-, 2 AP-1-, 2 SP-1-, 1 NFAT-1-(»nuclear factor of activated T-cells«-), 2 »shear stress response elements«-(GAGACC-) sowie 2 c-Myc-Konsensusmotive als mögliche Bindungsstellen für Transkriptionsfaktoren beschrieben (Amini Neeko u. Iles 2008). Promotorstudien mittels Deletionsmutanten konnten auf Zellkulturebene 4 negative Regulationselemente in den Bereichen zwischen -1999 und -345, -1158 und -796, -548 und -390 sowie -390 und -75 relativ zum Transkriptionsstart lokalisieren, die zu einer verminderten transkriptionellen Aktivität des Promotors führen (Petit et al. 1999a). Inwieweit diese Elemente jedoch auch in vivo zur Regulation der TFPI-Transkription beitragen, ist noch unklar.

Im Bereich des TFPI-Gens sowie seiner Promotorregion sind bislang mehrere Polymorphismen beschrieben, die zum Teil in kleineren klinischen Studien mit einem vermehrten Auftreten von Thrombosen assoziiert werden konnten (Tab. 15.3). Aufgrund der geringen Fallzahl dieser Studien konnte jedoch bisher für keinen Polymorphis-

mus überzeugend und reproduzierbar ein Einfluss auf die Hämostase gezeigt werden. Eine an einem Kollektiv von 2.029 postmenopausalen Frauen durchgeführte Analyse von 280 Single-Nucleotid-Polymorphismen (SNP) im Bereich der wichtigsten Thrombosekandidatengene konnte jedoch für das TFPI-Gen eine hochsignifikante Assoziation (p=0,005) mit dem Auftreten venöser Thrombosen nachweisen (Smith et al. 2007).

### TFPI-1-mRNA-Transkripte

Die Transkription des TFPI-Gens führt zu mRNA-Produkten, die in Länge und Sequenz variieren (Girard et al. 1989b). Neben den beschriebenen multiplen Transkriptionsstartstellen wird die Heterogenität vornehmlich durch variable 3'-Polyadenylierungssignale bedingt. Alternatives Spleißen, wie für Exon 2 beschrieben, trägt zudem zur Größendiversität der TFPI-Transkripte bei. Die 2 wichtigsten mRNA-Isoformen sind TFPI α und β. Die Transkripte, die zur Translation des klassischen, aus 3 Kunitz-Domänen bestehenden TFPI-Genproduktes führen, werden heute als TFPI α bezeichnet. Daneben wird durch alternatives Spleißen im Bereich des 3'-Endes eine als TFPI β benannte trunkierte Isoform gebildet (Zhang et al. 2003; Piro u. Broze 2005). Hier erfolgt nach Exon 7 der Einschluss eines alternativen Exons β, das eine 12 Aminosäuren lange Sequenz kodiert, welche von einer Signalsequenz gefolgt wird, die eine Glykosylphosphatidylinositol-(GPI-)Ankeranlage birgt. Letztere wird posttranslational im endoplasmatischen Retikulum abgespalten und gegen einen intrinsischen GPI-Anker getauscht. Somit besteht das zugehörige Protein aus den ersten beiden Kunitz-Domänen sowie einem distinkten C-Terminus und unterscheidet sich von TFPI α allein durch 12 spezifische Aminosäuren. In kultivierten humanen Endothelzellen macht TFPI β rund 10% der gesamten TFPI-mRNA aus. Obwohl der Nachweis von TFPI-β-mRNA in humanen untransfizierten Endothelzellen gelang, konnte das zugehörige Protein bisher nicht detektiert werden (Piro u. Broze 2004; Bogdanov 2006; Maroney et al. 2008).

**Tab. 15.3.** Übersicht über die bekannten Polymorphismen im TFPI-Gen

| Variation | Klinische Studien |
|---|---|
| -399C>T | – Keine Assoziation mit tiefer Beinvenenthrombose, n=366 (Miyata et al. 1998)<br>– keine Assoziation mit akutem Koronarsyndrom; kein Einfluss auf TFPI-Plasmaspiegel der Kontrollgruppe, -399T-Allel im akuten Koronarsyndrom mit reduzierten TFPI-Plasmaspiegeln assoziiert, n=398 (Moatti et al. 2000)<br>– keine Assoziation mit TFPI-Plasmaspiegeln, TFPI-Plasmaaktivität und zerebraler Ischämie, n=332 (Sayer et al. 2007)<br>– in Anwesenheit einer Faktor-V-Leiden-Mutation oder Antiphospholipidantikörper-Assoziation mit tiefer Benvenenthrombose, n=124 (Lincz et al. 2007) |
| -287T>C | – Keine Assoziation mit akutem Koronarsyndrom, -287C-Allel in der Kontrollgruppe mit erhöhten TFPI-Plasmaspiegeln assoziiert, n=398 (Moatti et al. 2000)<br>– keine Assoziation mit TFPI-Plasmaspiegeln, TFPI-Plasmaaktivität und zerebraler Ischämie, n=332 (Sayer et al. 2007)<br>– keine Assoziation mit Restenoseraten nach Koronarstenting, n=433 (Moatti et al. 2001) |
| -33T>C | – Keine Assoziation mit TFPI-Plasmaspiegeln, TFPI-Plasmaaktivität und zerebraler Ischämie, n=332 (Sayer et al. 2007)<br>– in Anwesenheit einer Faktor-V-Leiden-Mutation oder Antiphospholipidantikörper-Assoziation mit tiefer Beinvenenthrombose, n=124 (Lincz et al. 2007)<br>– keine Assoziation mit Restenoseraten nach Koronarstenting, n=433 (Moatti et al. 2001)<br>– CC-Genotyp mit erniedrigtem Risiko für tiefe Beinvenenthrombosen sowie erhöhten TFPI-Plasmaspiegeln assoziiert, n=1.156 (Ameziane et al. 2002)<br>– keine Assoziation mit akutem Koronarsyndrom, n=272 (Moatti et al. 1999) |
| 384T>C | – Keine Assoziation mit akutem Koronarsyndrom, n=272 (Moatti et al. 1999) |
| 536C>T | – Assoziation mit tiefer Beinvenenthrombose, n=308 (Kleesiek et al. 1999)<br>– keine Assoziation zu venösen Thrombosen, auch nicht in Anwesenheit einer Faktor-V-Leiden-Mutation, n=1.089 (Hessner u. Luhm 2000)<br>– keine Assoziation mit tiefer Beinvenenthrombose, n=211(Evans et al. 2000)<br>– keine Assoziation mit tiefer Beinvenenthrombose, koronarer Herzerkrankung und ischämischem Insult, n=708, (Gonzalez-Conejero, et al. 2000) |
| 1006/874G>A | – Keine Assoziation mit TFPI-Plasmaspiegeln, TFPI-Plasmaaktivität und zerebraler Ischämie, n=332 (Sayer et al. 2007)<br>– keine Assoziation mit Restenoseraten nach Koronarstenting, n=433 (Moatti et al. 2001)<br>– keine Assoziation mit akutem Koronarsyndrom, n=272 (Moatti et al. 1999)<br>– keine Assoziation mit venöser Thrombose, n=688 (Mues u. Sarode 2002), n=575 (Arnaud et al. 1999) |

*A* Adenin; *C* Cytosin; *G* Guanin; *T* Thymin; *TF* Tissue Factor; *TFPI* Tissue Factor Pathway Inhibitor

Erst vor Kurzem wurde in der Maus eine dritte Isoform – TFPI γ – nachgewiesen, die ebenfalls durch alternatives Spleißen entsteht, wobei die gleiche »5'-splice-donor-site« wie bei TFPI β Verwendung findet. Die »3'-splice-acceptor-site« liegt jedoch 187 Nukleotide hinter dem »stop codon« von TFPI β. Das zugehörige Protein setzt sich aus den ersten beiden Kunitz-Domänen sowie einem spezifischen, 18 Aminosäuren langen C-Terminus zusammen und besitzt zumindest in vitro antikoagulatorische Aktivität. Im menschlichen Gewebe konnte diese Isoform bisher weder auf mRNA noch auf Proteinebene nachgewiesen werden (Maroney et al. 2008).

### TFPI-Protein

#### TFPI α

Das translatierte Produkt der TFPI-α-mRNA ist ein 304 Aminosäuren großes Protein. Durch Abspaltung der 28 Aminosäuren des Signalpeptides entsteht der reife, 276 AS umfassende Kunitz-Typ-Serinproteaseninhibitor TFPI. Auf den sauren N-Terminus folgen die 3 hintereinander geschalteten Kunitz-Typ-Domänen (K1: Asp13-Arg78; K2: Glu92-Gly150; K3: Glu182-Lys241) sowie der basische C-Terminus (◘ Abb. 15.7b). Jede Kunitz-Domäne besitzt jeweils 6 Cysteinreste, die untereinander Disulfidbindungen eingehen, wobei jeweils der 1. Cysteinrest mit dem 6., der 2. mit dem 4. und der 3. mit dem 5. eine Paarung ausbildet und so die Struktur der Domänen stabilisiert.

Während der N-Terminus durch saure Reste eine hohe negative Ladungsdichte besitzt, überwiegen im C-Terminus positiv geladene basische Aminosäuren. Die reine Proteinmasse berechnet sich mit 32 kDa, durch posttranslationale Modifikationen entsteht jedoch das reife, rund 43 kDa schwere Glykoprotein. In den Positionen Ser174 und Thr175 wird TFPI O-verknüpft, in den Position Asp117 und Asp167 N-verknüpft glykosiliert. Diese posttranslationalen Modifikationen scheinen sich zwar nicht entscheidend auf die inhibitorische Integrität auszuwirken, wie Untersuchungen mit rekombinantem, nicht posttranslational glykosiliertem TFPI jedoch vermuten lassen, beeinflussen sie jedoch die Abbauraten und Zellbindungseigenschaften von TFPI (Wun et al. 1988; Kamikubo et al. 1996).

TFPI α stellt 90–100% des löslichen, sezernierten TFPI dar und repräsentiert ungefähr 80% des zellulär gebunden TFPI (Piro u. Broze 2005).

#### TFPI β

Das translatierte Produkt der TFPI-β-mRNA ist ein 221 Aminosäuren großes Protein, bei dem die 3. Kunitz-Domäne sowie das basische C-Terminal-Cluster durch einen nicht verwandten C-Terminus ersetzt sind. Der C-terminale Schwanz wird intrazellulär weiter prozessiert, indem eine 29 Aminosäuren große Sequenz, die das Signal für eine GPI-Ankeranlage birgt, im endoplasmatischen Retikulum abgespalten und gegen eine GPI-Kette getauscht wird. Das reife Protein umfasst 192 Aminosäuren (◘ Abb. 15.7c).

Obwohl TFPI β mit einer reinen Proteinmasse von 28 kDa kleiner als TFPI α ist, wandern beide Isoformen in der Elektrophorese aufgrund posttranslationaler Modifikation mit scheinbar der gleichen Proteinmasse. Während der Gehalt an N-gekoppelten Zuckerresten vergleichbar ist, weist TFPI β einen höheren Gehalt an O-verknüpften sialsäurereichen Oligosacchariden auf, wobei die exakten Glykosilierungsstellen im Einzelnen noch nicht identifiziert sind. TFPI β wird nicht sezerniert, sondern liegt allein als membranassoziiertes, direkt GPI-verankertes Protein vor. Obwohl es nur rund 20% des an Zelloberflächen gebundenen TFPI ausmacht, ist TFPI β anscheinend für den Großteil der antikoagulatorischen Aktivität verantwortlich. Ein selektiver TFPI-β-Knockdown auf Zellkulturebene verursachte eine 7,5-fach gesteigerte FXa-Bildung, wohingegen TFPI-α-Deletionsmutanten nur einen Anstieg um Faktor 2,5 erzeugten (Chang et al. 1999; Piro u. Broze 2005).

## 15.2.4 Physiologie

### TFPI-Expression

TFPI wird vornehmlich von Endothelzellen, die schon in Ruhe eine hohe konstitutive Expression an TFPI aufweisen, synthetisiert (Bajaj et al. 1990). Aus diesem Grund wurden die meisten Daten zur Expression und Metabolisierung von TFPI auch durch Untersuchungen an vaskulärem Endothel gewonnen. So konnte die mRNA- und Proteinbiosynthese von endothelialem TFPI in vitro durch eine Vielzahl an Agonisten wie »Phorbol-12-myristat-13-acetate (PMA), LPS, Il-1, TNF-α, Heparin, aber auch durch Scherkräfte stimuliert werden (Ameri et al. 1992; Westmuckett et al. 2000; Lupu et al. 1999). Daneben sind glatte Gefäßmuskelzellen, Monozyten, mesangiale Fibroblasten, Kardiomyozyten, Thrombozyten, Megakaryozyten sowie viele neoplastische Zelllinien zur TFPI-Expression befähigt (Caplice et al. 1998; Petit et al. 1999b; Kereveur et al. 2001).

In vivo ist TFPI im Wesentlichen auf 3 Kompartimente verteilt: als löslicher TFPI im Plasma (10–50%), als zellulärer, endothelialer TFPI (50–80%) und als mit Thrombozyten assoziierter TFPI (2–5%) (◘ Abb. 15.8).

#### Löslicher TFPI

Endothelzellen, Monozyten, aber auch Thrombozyten sezernieren löslichen TFPI ins Plasma. Im menschlichen Plasma gesunder Individuen zirkuliert TFPI mit einer Konzentration von 2,5 nmol/l (Novotny et al. 1989), wobei eine zirkadiane Fluktuation mit den höchsten Plasmakonzentrationen am Morgen besteht (Dahm et al. 2006). Die Bestimmung der TFPI-Aktivität erfolgt über eine Messung

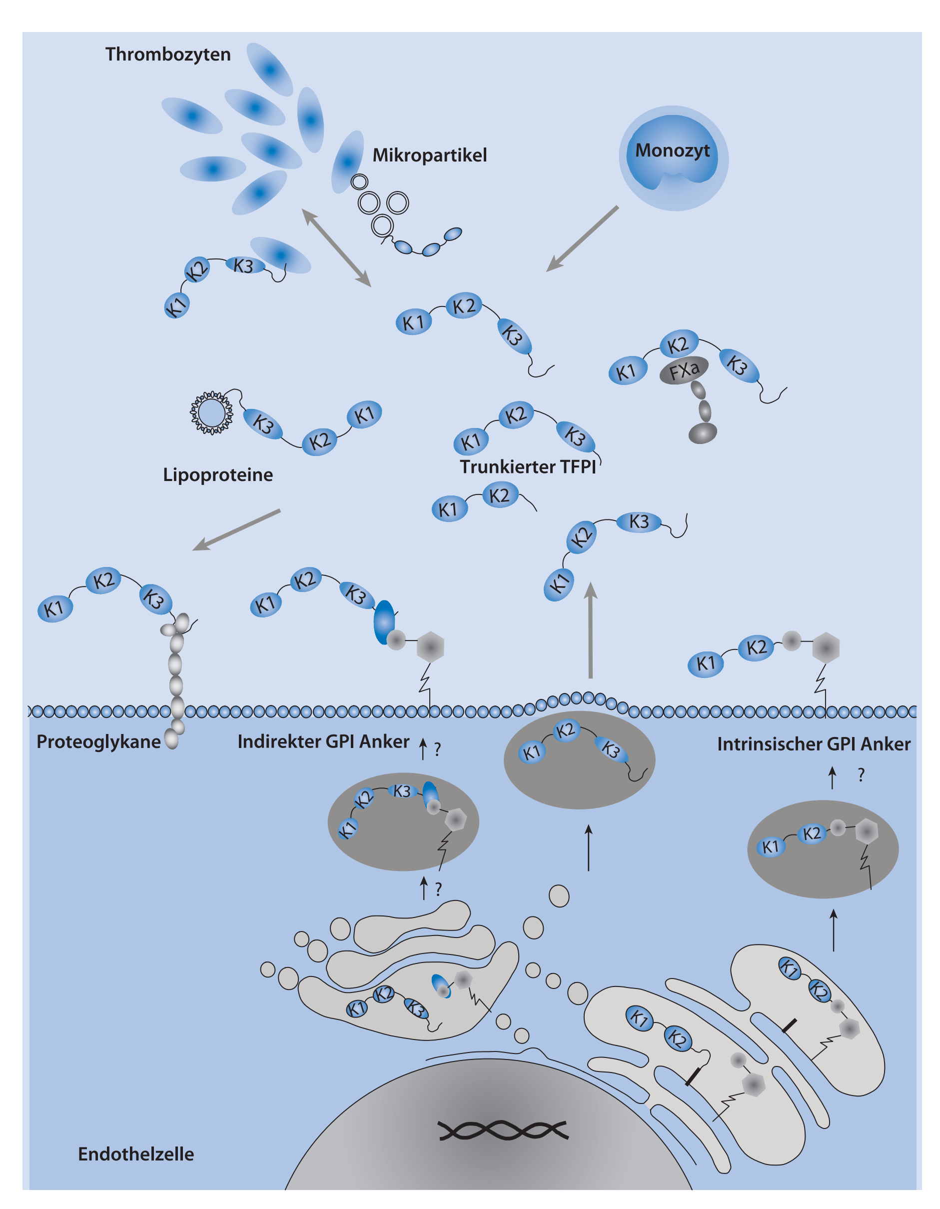



**Abb. 15.8.** Schematischer Überblick über die verschiedenen TFPI-Pools. Endothelzellen, Monozyten, aber auch Thrombozyten sezernieren löslichen TFPI ins Plasma. Nur ein kleiner Teil hiervon liegt als Full-Length-TFPI oder in Form C-terminal trunkierter Isoformen vor, der ganz überwiegende Anteil wird an Lipoproteine gebunden. Durch ionische Interaktion mit Proteoglykanen der Zellmembran kann löslicher TFPI wieder an die Endothelzelloberfläche rückbinden. Die alternativ gesplicte Isoform TFPI β trägt eine Signalsequenz, die zur posttranslationalen Anheftung eines intrinsischen GPI-Ankers im endoplasmatischen Retikulum führt. Bisher konnte die Oberflächenexpression dieses direkt GPI-verankerten Proteins jedoch nicht nachgewiesen werden. TFPIα hingegen scheint im Golgi-Apparat einen bisher nicht näher identifizierten GPI-gekoppelten Korezeptor zu binden und so indirekt GPI-verankert auf der Endothelzelloberfläche exprimiert zu werden. Neben löslichem TFPI können Thrombozyten auch TFPI-positive Mikropartikel sezernieren sowie zirkulierenden TFPI auf ihrer Oberfläche absorbieren. Nach Aktivierung exprimieren Thrombozyten zudem TFPI auf ihrer Oberfläche. GPI Glykosylphosphatidylinositol; *TFPI* Tissue Factor Pathway Inhibitor

der TFPI-Hemmung der FXa-Aktivierung durch den TF-FVIIa-Komplex. Die FXa-Aktivität wird dabei mit einem chromogenen Substrat gemessen und beträgt im Plasma 1 IU/ml. Die mittlere Konzentration an funktionellem TFPI im Plasma beträgt 55±8,2 ng/ml und an TFPI-Antigen 60±13 ng/ml. Bei Erwachsenen steigt die TFPI-Aktivität mit zunehmendem Lebensalter an. Die Halbwertszeit im Plasma ist mit 60–120 min relativ kurz.

Nur rund 10% des TFPI zirkuliert als Full-Length-TFPI mit 43 kDa in freier Form im Plasma. Der ganz überwiegende Anteil (ca. 80%) ist durch Ausbildung gemischter Disulfidbindungen an Lipoproteine, insbesonder LDL, ge-

bunden (Novotny et al. 1989). Das inhibitorische Potenzial gegen FXa-TF-FVIIa wird hierdurch deutlich reduziert. Die exakte Bedeutung dieser Assoziation ist noch weitgehend unklar, möglicherweise dient sie der Stabilisierung, daneben könnte sie die TFPI-Aktivität kontrollieren oder dem Schutz vor Degradierung dienen. Die restlichen 10% an zirkulierendem TFPI liegen unkomplexiert, in Form C-terminal trunkierter Isoformen (34–41 kDa) vor (Broze et al. 1994). Diesen Isoformen fehlt meist der Großteil der C-terminalen Domäne sowie Teile der 3. Kunitz-Domäne. Auch weisen diese Formen eine verminderte inhibitorische Aktivität auf und ihre Fähigkeit zur Bindung an Glykosaminoglykane ist vermindert.

Die Plasmakonzentration von freiem TFPI wird durch Heparin um das 2- bis 10-fache gesteigert. Dies beruht auf Freisetzung von glykosaminoglykanassoziiertem TFPI von Endothelzellen. Ähnlich steigern Glykosaminoglykane und »tissue-type plasminogen activator« (t-PA) die Freisetzung von endothelialem TFPI. Für die antikoagulatorischen Effekte von TFPI und die Fähigkeit, Heparin zu binden, ist der positiv geladene carboxyterminale Rest notwendig. Nach Heparininjektion stehen freier und endothelzellassoziierter TFPI in einem Equilibrium. Eine Verabreichung von Protamin oder Plättchenfaktor 4 in vivo neutralisiert den antikoagulatorischen Effekt von Heparin nicht vollständig, da durch die Freisetzung von TFPI eine zusätzliche antikoagulatorische Aktivität entsteht. TFPI steigert dadurch die antikoagulatorischen Eigenschaften von Heparin.

Nachdem in vitro eine Vielzahl an Proteasen wie Elastase, Kathepsin G, Matrixmetalloproteinasen (MMP) und Thrombin zur proteolytischen Spaltung von TFPI befähigt sind, wird vermutet, dass es sich bei diesen trunkierten Isoformen unter anderem um Degradierungsprodukte handelt (Li u. Wun 1998). Auch Faktor Xa kann, wenn er im molaren Überschuss vorliegt, TFPI im Bereich der 3. Kunitz-Domäne proteolytisch spalten. Lange war die physiologische Relevanz dieses proteolytischen Abbaus umstritten. In den letzten Jahren konnte man nun erstmals Hinweise darauf gewinnen, dass Proteasen das antikoagulatorische Potenzial von TFPI in vivo tatsächlich regulieren. So trägt neutrophile Elastase im Mausmodell durch Degradierung von TFPI zu einer gesteigerten Fibrinbildung bei. Daneben konnte bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt nach thrombolytischer Therapie sowohl eine Reduktion an zirkulierendem TFPI als auch eine verminderte Regulation der TF-Aktivität durch TFPI als Hinweis für eine mögliche, plasminvermittelte Degradierung beobachtet werden (Steppich et al. 2005).

### Endothelzellassoziierter TFPI

Der Großteil der Untersuchungen zu zellulärem TFPI wurde an kultivierten Endothelzellen durchgeführt. Inwieweit diese Daten auch auf andere Zelltypen übertragbar sind, bleibt abzuwarten. Da Endothelzellen in Ruhe keine TF-Expression aufweisen, ist die physiologische Bedeutung ihrer hohen konstitutiven TFPI-Expression noch nicht ganz verstanden.

### Glykosaminoglykangebundener TFPI

Nach Sekretion kann ein kleiner Teil des löslichen TFPI über ionische Interaktion mit Proteoglykanen an die Zelloberfläche binden. Wie man aus Studien mit Deletionsmutanten weiß, sind hierfür der basische C-Terminus sowie die 3. Kunitz-Domäne essenziell. Vermutlich führt Heparin, wie oben erwähnt, durch kompetitive Interaktion mit Proteoglykanen zur Freisetzung dieses TFPI-Pools.

### GPI-verankerter TFPI

Nachdem durch Glykosylphosphatidylinositol-Phospholipase C (GPI-PLC) – ein Enzym, das spezifisch GPI-Anker spaltet – wesentlich größere Mengen (10- bis 100-fach) an TFPI von der Endothelzelloberfläche freigesetzt werden als durch Heparin, ist der Großteil des oberflächenassoziierten TFPI nicht über Proteoglykane, sondern über einen GPI-Anker in der Zellmembran fixiert (Zhang et al. 2003). Die alternativ gespleißte Isoform TFPI β wird mit einem intrinsischen GPI-Anker, der posttranslational im endoplasmatischen Retikulum angeheftet wird, direkt an die Zellmembran gebunden (Chang et al. 1999; Piro u. Broze 2004). Die physiologische Bedeutung dieser Isoform in vivo ist allerdings noch weitgehend unklar. Da nicht nur TFPI β, sondern auch TFPI α durch GPI-PLC-Behandlung freigesetzt wird, scheint auch die Oberflächenbindung des klassischen, aus 3 Kunitz-Domänen bestehenden TFPI GPI-abhängig zu sein. Da sein basischer C-Terminus keine Assoziation an einen GPI-Anker begünstigt, wird vermutet, dass TFPI α indirekt durch Bindung an einen bisher nicht näher identifizierten GPI-gekoppelten Korezeptor in der Zellmembran befestigt wird.

Studien mit C-terminal trunkierten Mutanten konnten zeigen, dass die 3. Kunitz-Domäne ebenso wie der C-Terminus für diese Oberflächenbindung essenziell sind (Piro u. Broze 2005). TFPI α bindet, Experimenten mit GPI-defizienten Zellinien zufolge, wohl schon intrazellulär im Golgi-Apparat an seinen Korezeptor. Eine Anheftung von extrazellulär, nachdem TFPI α sezerniert wurde, ist anscheinend nicht möglich. Über sterische Effekte scheint die Bindung des Korezeptors mit der FVIIa-Interaktion von TFPI zu interferieren und gibt zur Vermutung Anlass, dass TFPI α neben der Inhibition des Prothrombinasekomplexes noch andere Funktionen übernimmt, wie beispielsweise die Bindung und den Abbau von FXa sowie die Modulation und Regulation TF-induzierter PAR-Signalwege.

### Intrazellulärer TFPI

Ein Teil des endothelialen TFPI wird intrazellulär in enger Nachbarschaft zur Zellmembran nachgewiesen. Diese zel-

luläre Fraktion wird durch verschiedene Agonisten wie Heparin, Thrombin oder durch Scherkräfte freigesetzt. Es ist allerdings umstritten, ob es sich hierbei wirklich um definierte intrazelluläre Speichergranula handelt oder ob nicht vielmehr Mikroinvaginationen der Zellmembran, sogenannte Caveolae vorliegen, in die der quaternäre Komplex aus TFPI-FXa-TF-FVIIa spezifisch und reversibel transloziert werden kann (Sevinsky et al. 1996; Ott et al. 2000).

### Thrombozytenassoziierter TFPI

In Blutplättchen lässt sich mittels Western Blot Full-Length-TFPI-α, nicht jedoch TFPI β nachweisen. Korrelierend hierzu synthetisieren Megakaryozyten TFPI-α-mRNA. Intrathrombozytär kann TFPI wohl in distinkten Speichern, die nicht α-Granula entsprechen, detektiert werden. Auf der Plättchenoberfläche wird TFPI nur nach dualer Stimulation mit Kollagen und Thrombin exprimiert, Stimulation mit nur einem Agonisten führt nicht zur TFPI-Exposition. Da dieser TFPI resistent gegenüber GPI-PLC-Behandlung ist, scheint er nicht GPI-verankert zu sein. Analysen unter Verwendung differenzieller Zentrifugation zeigten zudem, dass aktivierte Plättchen sowohl TFPI-positive Mikrovesikel als auch lösliches TFPI-Antigen sezernieren. Daneben scheinen Plättchen zirkulierenden TFPI aus dem Plasma auf ihrer Oberfläche absorbieren zu können (Maroney et al. 2007; Maroney et al. 2008).

Die einzelnen Formen von TFPI tragen an unterschiedlicher Stelle und auf distinkte Weise zur Hämostase bei. Während initial nach Gefäßwandverletzung primär membranassoziierter TFPI entscheidend für die Regulation der TF-Aktivität sein wird, könnte im Rahmen des weiteren Thrombuswachstums zirkulierender TFPI, plättchenassozierter TFPI, aber auch mikropartikulärer TFPI in den Vordergrund treten. Aktivierte Plättchen scheinen direkt im wachsenden Thrombus TFPI sezernieren zu können. Durch Bindung an extrazelluläre Nukleosomen, Thrombospondin1 (TSP-1; Mast et al. 2000) oder Protein S (Hackeng et al. 2006) existieren zudem Mechanismen, durch die löslicher TFPI in Oberflächen der extrazellulären Matrix integrieren und so seine antikoagulatorische Wirkung im Zentrum des thrombotischen Geschehens entfalten könnte (Crawley u. Lane 2008).

### TFPI-Metabolismus

Löslicher TFPI sowie membranassoziierter TFPI werden auf unterschiedliche Weise verstoffwechselt. Im Plasma zirkulierender TFPI wird unter Vermittelung des »LDL receptor-related protein« (LRP) von Hepatozyten sowie glatten Gefäßmuskelzellen endozytiert (Warshawsky et al. 1996). Ein 39 kDa großes, LRP-assoziiertes Protein fungiert hierbei als Korezeptor. Nach Internalisierung und Integration in klathringecoatete Vesikel wird TFPI schließlich der Degradation unterzogen. Wie man durch Injektion von radioaktiv markiertem, rekombinantem TFPI in Kaninchen weiß, erfolgt die Elimination vorwiegend über Leber und Niere, wobei die Plasmaclearance bei einer biexponenziellen Eliminationskinetik (α-Phase-Halbwertszeit 2,3 min, β-Phase-Halbwertszeit 79 min) 4,2 ml/kg pro Minute beträgt (Palmier et al. 1992). Da alle kinetischen Untersuchungen mit rekombinantem TFPI, der keine posttranslationale Glykosilierung aufweist, durchgeführt wurden, besitzen diese Daten allerdings nur eine limitierte Aussagekraft. Neben der endozytotischen Degradierung kann TFPI auch extrazellulär proteolytisch verdaut werden. Eine Vielzahl an endogenen Proteasen wie Elastase, Kathepsin G und Matrixmetalloproteinase (MMP) kann TFPI zumindest in vitro degradieren und somit sein antikoagulatorisches Potenzial kontrollieren (Li u. Wun 1998). Zudem wurde vor Kurzem nachgewiesen, dass die aus aktivierten Plättchen freigesetzte Polyphosphatase die Funktion von löslichem TFPI auf noch nicht näher charakterisierte Weise neutralisiert (Smith et al. et al. 2006).

Auf der Oberfläche von kultivierten Endothelzellen wird GPI-verankerter TFPI nach Integration in den TFPI-FXa-TF-FVII-Komplex-Liganden, induziert in glykosphingolipidreiche Caveolen, transloziert und hierdurch von der Zelloberfläche sequestriert. Diese Translokation scheint reversibel zu sein, sodass die Komponenten des Komplexes prinzipiell erneut exponiert werden können (Sevinsky et al. 1996; Ott et al. 2000). Proteoglykangebundener Full-Length-TFPI wird im Komplex mit FXa über einen bisher nicht näher identifizierten Rezeptor in Endothelzellen aufgenommen und nachfolgend degradiert (Ho et al. 1996).

## 15.2.5 Pathophysiologie

Die zentrale Stellung, die TFPI in Hämostase und Thrombose in vivo einnimmt, zeigt sich in Knockout-Mausmodellen. Deletion des TFPI-Gens führt bei homozygoten Embryonen aufgrund von Dottersackblutungen zum Absterben in utero (Huang et al. 1997). Mäuse mit heterozygoter TFPI-Defizienz besitzten hingegen einen normalen Phänotyp. Kreuzt man diese Tiere jedoch mit Faktor-V-Leiden-Knockout-Mäusen, so kommt es zur Demaskierung der Koagulopathie und zum perinatalen Tod (Eitzman et al. 2002). Daneben begünstigt die Immundepletion von TFPI im Kaninchenmodell die Thrombusbildung, während rekombinanter TFPI sowie retroviraler Gentransfer von TFPI die Tiere vor venöser Thrombose sowie DIC (disseminierte intravasale Gerinnung) schützt (Ragni et al. 2000; Golino et al. 2001).

Beim Menschen sind bisher keine Fälle einer kompletten genetischen TFPI-Defizienz beschrieben. Es wird allerdings postuliert, dass die Thromboseneigung von Patienten mit paroxysmaler nächtlicher Hämoglobinurie, die

eine Defizienz GPI-verankerter Membranproteine besitzen, durch den Mangel an zellassoziierten TFPI verursacht wird (Maroney et al. 2008). Während Polymorphismen im TFPI-Gen lange nur inkonsistent mit dem Risiko einer Thrombose assoziiert wurden, konnte vor Kurzem eine große Studie an 24 zentralen Thrombosegenen allein für SNP im TFPI-Gen eine hochsignifikante Korrelation mit venösen Thrombosen aufzeigen und so auch beim Menschen die pathophysiologische Bedeutung von TFPI unterstreichen (Smith et al. 2007). Daneben begünstigen sehr niedrige TFPI-Plasmaspiegel, auch nach Adjustierung für andere Risikofaktoren, das Auftreten venöser Thrombosen (Dahm et al. 2003). Erhöhte TFPI-Spiegel wurden bei einer Vielzahl anderer Erkrankungen wie Malignomen, Hypercholesterinämie, Diabetes mellitus, Glomerulonephritis und koronarer Herzerkrankung nachgewiesen, während erniedrigte Spiegel nach Schlaganfall, HMG-CoA-Reduktaseinhibitortherapie sowie bei Rauchern (Lwaleed u. Bass 2006) gefunden wurden. Aus den Veränderungen der TFPI-Aktivität bei verschiedenen Erkrankungen lässt sich die pathophysiologische Bedeutung von TFPI bisher nicht erklären.

Hemmende Anti-TFPI-Antikörper können die Gerinnungszeiten von Patienten mit Hämophilie normalisieren (Nordfang et al. 1991), und so war TFPI schon früh Ansatzpunkt neuer antithrombotischer Therapiestrategien. Derzeit stehen 2 Formen von rekombinantem TFPI für den therapeutischen Einsatz zur Verfügung: eine Full-Length-Form sowie eine trunkierte, nur aus den beiden 1. Kunitz-Domänen bestehende Form. In einer Phase-II-Studie zeigte die Gabe von Full-Length-rTFPI (»recombinant TFPI«, Tifacogin) bei Patienten mit schwerer Sepsis zwar reduzierte Spiegel an Thrombin-Antithrombin-Komplexen als Indikator einer verminderten TF-vermittelten Gerinnungsaktivierung. Eine Folgestudie konnte jedoch keinen Einfluss auf den klinischen Verlauf nachweisen (Abraham et al. 2003).

Trotz der Schlüsselstellung von TFPI in Hämostase und Thrombose besitzt die Bestimmung des TFPI-Antigens und der TFPI-Aktivität derzeit im klinischen Alltag keine Bedeutung.

### 15.2.6 TFPI-2

Auf der Suche nach weiteren Mitgliedern der Kunitz-Typ-Superfamilie entdeckte Sprecher et al. 1994 ein 30–36 kDa, großes Glykoprotein, das aufgrund seiner ausgeprägten Homologie zu TFPI-1 TFPI-2 benannt wurde (Sprecher et al. 1994). Sequenzanalysen zeigten bald, dass TFPI-2 mit dem schon länger bekannten »placental protein 5« (PP5) identisch ist (Kisiel et al. 1994). TFPI-2 besteht aus einem kurzen Aminoterminus, 3 tandemartig angeordneten Kunitz-Typ-Domänen sowie einem positiv geladenen C-Terminus. Der Genlocus für TFPI-2 befindet sich auf Chromosom 7q22.

TFPI-2 kann in vitro eine Vielzahl an Serinproteasen – hierunter Plasmin, Thrombin, Trypsin, Chymotrypsin, Kallikrein, Faktor XIa, FXa, TF-VIIa, t-PA, u-PA (»urokinase-type plasminogen activator«), aktiviertes Protein C, Matrixmetalloproteinasen, Kathepsin G und Neutrophilenelastase – fast ausschließlich durch Interaktion mit seiner 1. Kunitz-Domäne inhibieren. Inwieweit all diesen Interaktionen auch in vivo eine physiologische Relevanz zukommt, ist derzeit noch unklar. Nachdem TFPI-2 vornehmlich von Zellen der Vaskulatur (Endothelzellen, Fibroblasten, glatte Gefäßmuskelzellen) synthetisiert und in hoher Konzentration in die extrazelluläre Matrix eingelagert wird, vermutet man, dass seine zentrale physiologische Rolle in der Regulation des Matrix-Remodellings liegt. Vieles deutet derzeit darauf hin, dass Plasmin die relevante Zielprotease von TFPI-2 darstellt. Hierüber moduliert TFPI-2 wohl entscheidend die Matrixdegradation sowie die Aktivierung zahlreicher MMP. Daneben findet TFPI-2 zunehmend auch als Tumorsupressor-Gen Beachtung. So verstärkt die Regulation des TFPI-2-Gens bei vielen Tumorarten das Wachstum sowie die Metastasierung (Chand et al. 2005). Eine Beteiligung an Gerinnungsprozessen in vivo ist nicht bekannt.

## Literatur

Abraham E, Reinhart K, Opal S et al. (2003) Efficacy and safety of tifacogin (recombinant tissue factor pathway inhibitor) in severe sepsis: a randomized controlled trial. JAMA 290(2): 238–247

Ahamed J, Belting M, Ruf W (2005) Regulation of tissue factor-induced signaling by endogenous and recombinant tissue factor pathway inhibitor 1. Blood 105(6): 2384–2391

Ameri A, Kuppuswamy MN, Basu S et al. (1992) Expression of tissue factor pathway inhibitor by cultured endothelial cells in response to inflammatory mediators. Blood 79(12): 3219–3226

Ameziane N, Seguin C, Borgel D et al. (2002) The -33T⊠C polymorphism in intron 7 of the TFPI gene influences the risk of venous thromboembolism, independently of the factor V Leiden and prothrombin mutations. Thromb Haemost 88(2): 195–199

Amini Nekoo A, Iles D (2008) Analysis of a T-287C polymorphism in the tissue factor pathway inhibitor gene and identification of a repressor element in the promoter. Thromb Res 121(6): 813–9

Arnaud E, Moatti D, Emmerich J et al. (1999) No link between the TFPI V264M mutation and venous thromboembolic disease. Thromb Haemost 82(1): 159–160

Bajaj MS, Kuppuswamy MN, Saito H et al. (1990) Cultured normal human hepatocytes do not synthesize lipoprotein-associated coagulation inhibitor: evidence that endothelium is the principal site of its synthesis. Proc Natl Acad Sci USA 87(22): 8869–8873

Biggs R, Mac FR (1951) The reaction of haemophilic plasma to thromboplastin. J Clin Pathol 4(4): 445–459

Bogdanov VY (2006) Blood coagulation and alternative pre-mRNA splicing: an overview. Curr Mol Med 6(8): 859–869

Broze GJ Jr, Miletich JP (1987) Isolation of the tissue factor inhibitor produced by HepG2 hepatoma cells. Proc Natl Acad Sci USA 84(7): 1886–1890

Broze GJ Jr, Lange GW, Duffin KL et al. (1994) Heterogeneity of plasma tissue factor pathway inhibitor. Blood Coagul Fibrinolysis 5(4): 551–559

Caplice NM, Mueske CS, Kleppe LS et al. (1998) Expression of tissue factor pathway inhibitor in vascular smooth muscle cells and its regulation by growth factors. Circ Res 83(12): 1264–1270

Chand HS, Foster DC, Kisiel W (2005) Structure, function and biology of tissue factor pathway inhibitor-2. Thromb Haemost 94(6): 1122–1130

Chang JY, Monroe DM, Oliver JA et al. (1999) TFPIbeta, a second product from the mouse tissue factor pathway inhibitor (TFPI) gene. Thromb Haemost 81(1): 45–49

Crawley JT, Lane DA (2008) The haemostatic role of tissue factor pathway inhibitor. Arterioscler Thromb Vasc Biol 28(2): 233–242

Dahm A, Van Hylckama Vlieg A, Bendz B et al. (2003) Low levels of tissue factor pathway inhibitor (TFPI) increase the risk of venous thrombosis. Blood 101(11): 4387–4392

Dahm A, Osterud B, Hjeltnes N et al. (2006) Opposite circadian rhythms in melatonin and tissue factor pathway inhibitor type 1: does daylight affect coagulation? J Thromb Haemost 4(8): 1840–1842

Eitzman DT, Westrick RJ, Bi X et al. (2002) Lethal perinatal thrombosis in mice resulting from the interaction of tissue factor pathway inhibitor deficiency and factor V Leiden. Circulation 105(18): 2139–2142

Enjyoji K, Emi M, Mukai T et al. (1993) Human tissue factor pathway inhibitor (TFPI) gene: complete genomic structure and localization on the genetic map of chromosome 2q. Genomics 17(2): 423–428

Evans GD, Langdown J, Brown K et al. (2000) The C536T transition in the tissue factor pathway inhibitor gene is not a common cause of venous thromboembolic disease in the UK population. Thromb Haemost 83(3): 511

Girard TJ, Broze GJ Jr (1993) Tissue factor pathway inhibitor. Methods Enzymol 222: 195–209

Girard TJ, Warren LA, Novotny WF et al. (1989a) Functional significance of the Kunitz-type inhibitory domains of lipoprotein-associated coagulation inhibitor. Nature 338(6215): 518–520

Girard TJ, Warren LA, Novotny WF et al. (1989b) Identification of the 1.4 kb and 4.0 kb messages for the lipoprotein associated coagulation inhibitor and expression of the encoded protein. Thromb Res 55(1): 37–50

Girard TJ, Eddy R, Wesselschmidt RL et al. (1991) Structure of the human lipoprotein-associated coagulation inhibitor gene. Intro/exon gene organization and localization of the gene to chromosome 2. J Biol Chem 266(8): 5036–5041

Golino P, Cirillo P, Calabro P et al. (2001) Expression of exogenous tissue factor pathway inhibitor in vivo suppresses thrombus formation in injured rabbit carotid arteries. J Am Coll Cardiol 38(2): 569–576

Gonzalez-Conejero R, Lozano ML, Corral J et al. (2000) The TFPI 536C→T mutation is not associated with increased risk for venous or arterial thrombosis. Thromb Haemost 83(5): 787–788

Hackeng TM, Sere KM, Tans G et al. (2006) Protein S stimulates inhibition of the tissue factor pathway by tissue factor pathway inhibitor. Proc Natl Acad Sci USA 103(9): 3106–3111

Hessner MJ, Luhm RA (2000) The C536T transition in the tissue factor pathway inhibitor (TFPI) gene does not contribute to risk of venous thrombosis among carriers of factor V Leiden. Thromb Haemost 84(4): 724–725

Hjort PF (1957) Intermediate reactions in the coagulation of blood with tissue thromboplastin; convertin, accelerin, prothrombinase. Scand J Clin Lab Invest 9(Suppl 27): 1–183

Ho G, Toomey JR, Broze GJ Jr et al. (1996) Receptor-mediated endocytosis of coagulation factor Xa requires cell surface-bound tissue factor pathway inhibitor. J Biol Chem 271(16): 9497–9502

Huang ZF, Wun TC, Broze GJ Jr (1993) Kinetics of factor Xa inhibition by tissue factor pathway inhibitor. J Biol Chem 268(36): 26950–26955

Huang ZF, Higuchi D, Lasky N et al. (1997) Tissue factor pathway inhibitor gene disruption produces intrauterine lethality in mice. Blood 90(3): 944–951

Kamikubo Y, Hamuro T, Matsuda J et al. (1996) The clearance of proteoglycan-associated human recombinant tissue factor pathway inhibitor (h-rTFPI) in rabbits: a complex formation of h-rTFPI with factor Xa promotes a clearance rate of h-rTFPI. Thromb Res 83(2): 161–173

Kereveur A, Enjyoji K, Masuda K et al. (2001) Production of tissue factor pathway inhibitor in cardiomyocytes and its upregulation by interleukin-1. Thromb Haemost 86(5): 1314–1319

Kisiel W, Sprecher CA, Foster DC (1994) Evidence that a second human tissue factor pathway inhibitor (TFPI-2) and human placental protein 5 are equivalent. Blood 84(12): 4384–4385

Kleesiek K, Schmidt M, Gotting C et al. (1999) The 536C→T transition in the human tissue factor pathway inhibitor (TFPI) gene is statistically associated with a higher risk for venous thrombosis. Thromb Haemost 82(1): 1–5

Li A, Wun TC (1998) Proteolysis of tissue factor pathway inhibitor (TFPI) by plasmin: effect on TFPI activity. Thromb Haemost 80(3): 423–427

Lincz LF, Adams MJ, Scorgie FE et al. (2007) Polymorphisms of the tissue factor pathway inhibitor gene are associated with venous thromboembolism in the antiphospholipid syndrome and carriers of factor V Leiden. Blood Coagul Fibrinolysis 18(6): 559–564

Lu G, Broze GJ Jr, Krishnaswamy S (2004) Formation of factors IXa and Xa by the extrinsic pathway: differential regulation by tissue factor pathway inhibitor and antithrombin III. J Biol Chem 279(17): 17241–17249

Lupu C, Poulsen E, Roquefeuil S et al. (1999) Cellular effects of heparin on the production and release of tissue factor pathway inhibitor in human endothelial cells in culture. Arterioscler Thromb Vasc Biol 19(9): 2251–2262

Lwaleed BA, Bass PS (2006) Tissue factor pathway inhibitor: structure, biology and involvement in disease. J Pathol 208(3): 327–339

Maroney SA, Mast AE (2008) Expression of tissue factor pathway inhibitor by endothelial cells and platelets. Transfus Apher Sci 38(1): 9–14

Maroney SA, Haberichter SL, Friese P et al. (2007) Active tissue factor pathway inhibitor is expressed on the surface of coated platelets. Blood 109(5): 1931–1937

Maroney SA, Ferrel JP, Collins ML et al. (2008) Tissue factor pathway inhibitor-gamma is an active alternatively spliced form of TFPI present in mice but not in humans. J Thromb Haemost 6(8):1344–51

Mast AE, Broze GJ Jr (1996) Physiological concentrations of tissue factor pathway inhibitor do not inhibit prothrombinase. Blood 87(5): 1845–1850

Mast AE, Stadanlick JE, Lockett JM et al. (2000) Tissue factor pathway inhibitor binds to platelet thrombospondin-1. J Biol Chem 275(41): 31715–31721

Mine S, Yamazaki T, Miyata T et al. (2002) Structural mechanism for heparin binding of the third Kunitz domain of human tissue factor pathway inhibitor. Biochemistry 41(1): 78–85

Miyata T, Sakata T, Kumeda K et al. (1998) C-399T polymorphism in the promoter region of human tissue factor pathway inhibitor (TFPI) gene does not change the plasma TFPI antigen level and does not cause venous thrombosis. Thromb Haemost 80(2): 345–346

Moatti D, Seknadji P, Galand C et al. (1999) Polymorphisms of the tissue factor pathway inhibitor (TFPI) gene in patients with acute coronary syndromes and in healthy subjects : impact of the V264M substitution on plasma levels of TFPI. Arterioscler Thromb Vasc Biol 19(4): 862–869

Moatti D, Haidar B, Fumeron F et al. (2000) A new T-287C polymorphism in the 5′ regulatory region of the tissue factor pathway inhibitor gene. Association study of the T-287C and C-399T polymorphisms with coronary artery disease and plasma TFPI levels. Thromb Haemost 84(2): 244–249

Moatti D, Meirhaeghe A, Ollivier V et al. (2001) Polymorphisms of the tissue factor pathway inhibitor gene and the risk of restenosis after coronary angioplasty. Blood Coagul Fibrinolysis 12(4): 317–323

Mues GI, Sarode R (2002) Allele frequencies of tissue factor pathway inhibitor polymorphisms in African-American, Hispanic and Caucasian populations. Thromb Haemost 88(5): 875–877

Nordfang O, Valentin S, Beck TC et al. (1991) Inhibition of extrinsic pathway inhibitor shortens the coagulation time of normal plasma and of hemophilia plasma. Thromb Haemost 66(4): 464–467

Novotny WF, Girard TJ, Miletich JP et al. (1989) Purification and characterization of the lipoprotein-associated coagulation inhibitor from human plasma. J Biol Chem 264(31): 18832–18837

Ott I, Miyagi Y, Miyazaki K et al. (2000) Reversible regulation of tissue factor-induced coagulation by glycosyl phosphatidylinositol-anchored tissue factor pathway inhibitor. Arterioscler Thromb Vasc Biol 20(3): 874–882

Palmier MO, Hall LJ, Reisch CM et al. (1992) Clearance of recombinant tissue factor pathway inhibitor (TFPI) in rabbits. Thromb Haemost 68(1): 33–36

Petersen LC, Bjorn SE, Olsen OH et al. (1996) Inhibitory properties of separate recombinant Kunitz-type-protease-inhibitor domains from tissue-factor-pathway inhibitor. Eur J Biochem 235(1–2): 310–316

Petit L, Lesnik P, Dachet C et al. (1999a) The promoter of human tissue factor pathway inhibitor gene: identification of potential regulatory elements. Thromb Res 95(5): 255–262

Petit L, Lesnik P, Dachet C et al. (1999b) Tissue factor pathway inhibitor is expressed by human monocyte derived macrophages : relationship to tissue factor induction by cholesterol and oxidized LDL. Arterioscler Thromb Vasc Biol 19(2): 309–315

Piro O, Broze GJ Jr (2004) Role for the Kunitz-3 domain of tissue factor pathway inhibitor-alpha in cell surface binding. Circulation 110(23): 3567–3572

Piro O, Broze GJ Jr (2005) Comparison of cell-surface TFPIalpha and beta. J Thromb Haemost 3(12): 2677–2683

Provencal M, Michaud M, Beaulieu E et al. (2008) Tissue factor pathway inhibitor (TFPI) interferes with endothelial cell migration by inhibition of both the Erk pathway and focal adhesion proteins. Thromb Haemost 99(3): 576–585

Ragni M, Golino P, Cirillo P et al. (2000) Endogenous tissue factor pathway inhibitor modulates thrombus formation in an in vivo model of rabbit carotid artery stenosis and endothelial injury. Circulation 102(1): 113–117

Sayer MS, Cole VJ, Adams MJ et al. (2007) Polymorphisms in the tissue factor pathway inhibitor gene are not associated with ischaemic stroke. Blood Coagul Fibrinolysis 18(7): 703–708

Sevinsky JR, Rao LV, Ruf W (1996) Ligand-induced protease receptor translocation into caveolae: a mechanism for regulating cell surface proteolysis of the tissue factor-dependent coagulation pathway. J Cell Biol 133(2): 293–304

Smith NL, Hindorff LA, Heckbert SR et al. (2007) Association of genetic variations with nonfatal venous thrombosis in postmenopausal women. JAMA 297(5): 489–498

Smith SA, Mutch NJ, Baskar D et al. (2006) Polyphosphate modulates blood coagulation and fibrinolysis. Proc Natl Acad Sci USA 103(4): 903–908

Sprecher CA, Kisiel W, Mathewes S et al. (1994) Molecular cloning, expression, and partial characterization of a second human tissue-factor-pathway inhibitor. Proc Natl Acad Sci USA 91(8): 3353–3357

Steppich B, Mattisek C, Sobczyk D et al. (2005) Tissue factor pathway inhibitor on circulating microparticles in acute myocardial infarction. Thromb Haemost 93(1): 35–39

Valentin S, Nordfang O, Bregengard C et al. (1993) Evidence that the C-terminus of tissue factor pathway inhibitor (TFPI) is essential for its in vitro and in vivo interaction with lipoproteins. Blood Coagul Fibrinolysis 4(5): 713–720

van der Logt CP, Reitsma PH, Bertina RM (1991) Intron-exon organization of the human gene coding for the lipoprotein-associated coagulation inhibitor: the factor Xa dependent inhibitor of the extrinsic pathway of coagulation. Biochemistry 30(6): 1571–1577

van der Logt P, Kluck PM, Wiegant J et al. (1992) Refined regional assignment of the human tissue factor pathway inhibitor (TFPI) gene to chromosome band 2q32 by non-isotopic in situ hybridization. Hum Genet 89(5): 577–578

Warshawsky I, Herz J, Broze GJ Jr et al. (1996) The low density lipoprotein receptor-related protein can function independently from heparan sulfate proteoglycans in tissue factor pathway inhibitor endocytosis. J Biol Chem 271(42): 25873–25879

Wesselschmidt R, Likert K, Girard T et al. (1992) Tissue factor pathway inhibitor: the carboxy-terminus is required for optimal inhibition of factor Xa. Blood 79(8): 2004–2010

Wesselschmidt R, Likert K, Huang Z et al. (1993) Structural requirements for tissue factor pathway inhibitor interactions with factor Xa and heparin. Blood Coagul Fibrinolysis 4(5): 661–669

Westmuckett AD, Lupu C, Roquefeuil S et al. (2000) Fluid flow induces upregulation of synthesis and release of tissue factor pathway inhibitor in vitro. Arterioscler Thromb Vasc Biol 20(11): 2474–2482

Wun TC, Kretzmer KK, Girard TJ et al. (1988) Cloning and characterization of a cDNA coding for the lipoprotein-associated coagulation inhibitor shows that it consists of three tandem Kunitz-type inhibitory domains. J Biol Chem 263(13): 6001–6004

Zhang J, Piro O, Lu L et al. (2003) Glycosyl phosphatidylinositol anchorage of tissue factor pathway inhibitor. Circulation 108(5): 623–627

# 18 Faktoren V und VIII

*J. Müller*

## Einleitung

Die Gerinnungsfaktoren V (FV) und VIII (FVIII) spielen als Kofaktoren enzymatischer Aktivierungsreaktionen eine zentrale Rolle in der Gerinnungskaskade. Während aktivierter FV (FVa) innerhalb des Prothrombinasekomplexes die Generierung von Thrombin beschleunigt, ermöglicht aktivierter FVIII (FVIIIa) innerhalb des Tenasekomplexes die effektive Bildung von aktiviertem Faktor X (FXa). Neben der prokoagulatorischen Eigenschaft von FVa kommt FV in Form einer entsprechend aktivierten Variante (FVac) eine antikoagulatorische Kofaktorfunktion bei der durch aktiviertes Protein C (APC) vermittelten Inaktivierung von FVIII zu.

Der Stellenwert der beiden Kofaktoren für die Thrombinbildung wird durch die lebenslang bestehende Blutungsneigung von Patienten mit angeborenen FV- und FVIII-Mangelerkrankungen belegt. Umgekehrt ist eine gestörte Inaktivierung, wie bei vorliegender FV-Leiden-Mutation, mit einer gesteigerten Thrombinbildung und Thromboseneigung assoziiert.

## 18.1 Biosynthese, Struktur und Vorkommen

FV und FVIII weisen hohe Homologien in ihrem molekularen Aufbau auf, welche auf die Entwicklung der beiden Kofaktoren aus einem gemeinsamen Vorläuferprotein schließen lässt (Church et al. 1984). Insgesamt besteht eine ca. 40%ige Sequenzidentität in den A- und C-Domänen dieser beiden Proteine (Jenny et al. 1987).

Die Synthese erfolgt hauptsächlich in den Zellen der Leber, wobei vor der Sekretion umfangreiche posttranslationale Modifikationen stattfinden. Die Sekretion sowohl von FV als auch von FVIII wird unter anderem durch das Chaperon LMAN1 (ERGIC-53) und dessen Kofaktor MCFD2 begleitet. Mutationen in diesen Genen konnten als Grund für einen kombinierten Mangel an FV und FVIII identifiziert werden (Zhang et al. 2006).

### 18.1.1 Biosynthese, Struktur und Vorkommen von Faktor V

Das Gen, welches FV kodiert (F5), ist auf Chromosom 1q23 lokalisiert, umfasst 80 kbp und besteht aus 25 Exons. Die entsprechende »complementary DNA« (cDNA) hat eine Länge von 6.672 bp und kodiert ein Präprotein mit 2.224 Aminosäuren (AS) inklusive eines 28 AS umfassenden Signalpeptids, welches die Sekretion des Proteins aus der Zelle dirigiert. Nach Durchlaufen aller posttranslationalen Modifikationen präsentiert sich FV als ein einkettiges Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von ca. 330 kDa (Jenny et al. 1987).

Die Proteinstruktur des FV weist dieselbe Domänenanordnung wie die des FVIII (A1-A2-B-A3-C1-C2) auf (Abb. 18.1):

- **FV** (Abb. 18.1a) wird durch limitierte Proteolyse an den AS-Positionen Arg709, Arg1.018 und Arg1.545 durch Thrombin bzw. FXa zu dem im Prothrombinasekomplex prokoagulatorisch wirkenden Kofaktor (FVa) aktiviert. Eine initiale Spaltung von FV an Arg506 durch APC führt zu einem antikoagulatorisch wirksamen Protein (FVac), welchem eine Kofaktorfunktion bei der APC/PS-vermittelten Inaktivierung von FVIIIa zukommt. Die Inaktivierung von FVa erfolgt durch Spaltungen an Arg306, Arg506 und Arg679 durch APC. Die Inaktivierung von FVac kann sowohl durch Thrombin bzw. FXa als auch durch APC erfolgen.
- **FVIII** (Abb. 18.1.b) unterliegt schon intrazellulär proteolytischen Spaltungen innerhalb der B-Domäne, welche zu einem in der Zirkulation mit von-Willebrand-Faktor-(vWF-)assoziierten Heterodimer führen. Die physiologisch bedeutsame Aktivierung von FVIII erfolgt durch thrombinvermittelte Spaltungen an Arg372, Arg740 und Arg1.689. Die Inaktivierung von FVIIIa wird neben einer spontanen Dissoziation der A2-Domäne zum einen durch Spaltungen an Arg336 und Arg562 durch APC/PS/FVac vermittelt. Zum anderen kann eine Inaktivierung auch über FXa durch Spaltungen an Arg336 und Lys36 und über FIXa durch Spaltung an Arg336 erfolgen.

Die B-Domäne ist stark glykosyliert und wird von 2 aus vorwiegend sauren AS bestehenden Segmenten (b1 und b2) flankiert (Bukys et al. 2006). Die A-Domänen von FV und FVIII weisen hohe Homologien zu Coeruloplasmin auf. Die C-Domänen können zur Familie der phospholipidbindenden Proteine gerechnet werden (Jenny et al. 1987). Prinzipiell können 2 Formen von FV unterschieden werden ($FV_1$ und $FV_2$), welche sich in ihren Glykosylierungseigenschaften an AS2.181 unterscheiden (Nicolaes et al. 1999).

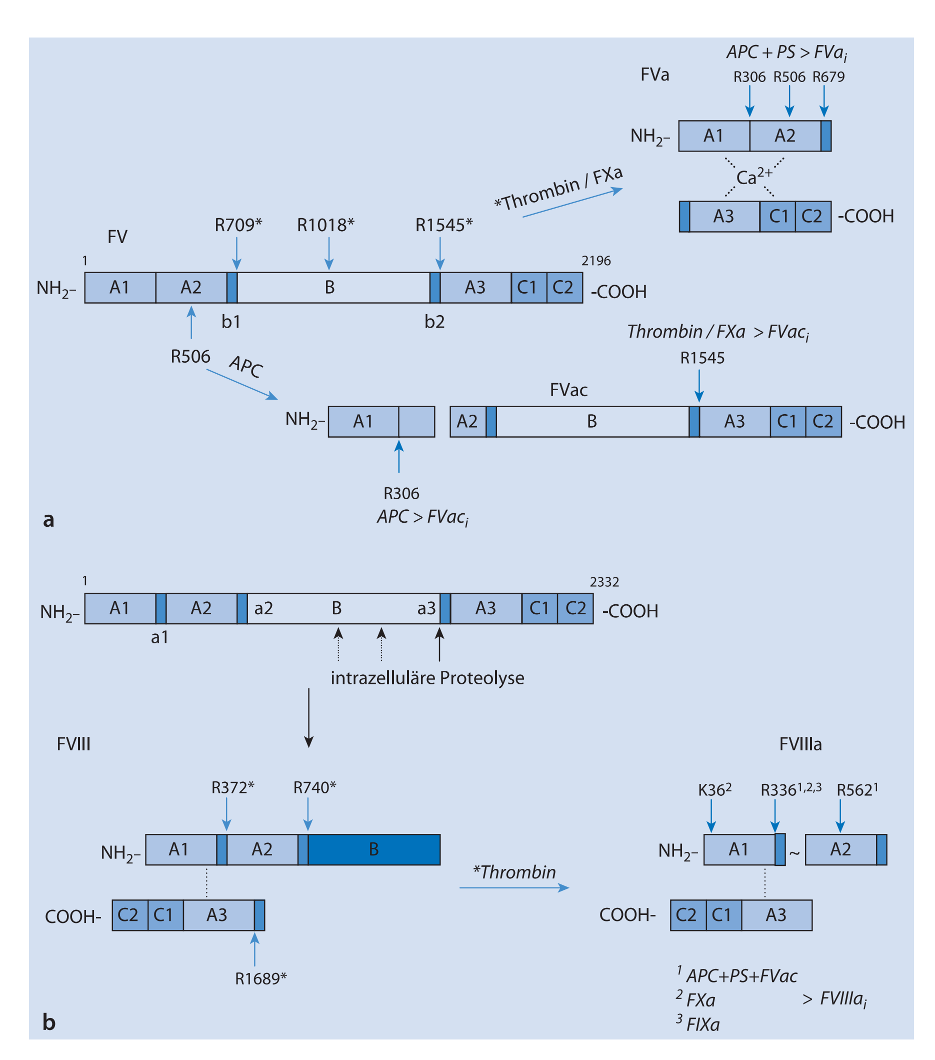



**Abb. 18.1a,b.** Molekularer Aufbau, Aktivierung und Inaktivierung der Kofaktoren FV und FVIII. Sowohl FV als auch FVIII weisen 3 A-Domänen (A1, A2, A3), 1 B-Domäne und 2 C-Domänen (C1 und C2) auf, welche in identischer Anordnung die jeweiligen Molekülstrukturen bestimmen. **a** FV wird durch limitierte Proteolyse an den AS-Positionen Arg709, Arg1.018 und Arg1.545 durch Thrombin bzw. FXa zu dem im Prothrombinase-Komplex prokoagulatorisch wirkenden Kofaktor (FVa) aktiviert. Andererseits führt eine initiale Spaltung von FV an Arg506 durch APC zu einem antikoagulatorisch wirksamen Protein (FVac), welchem eine Kofaktorfunktion bei der APC/PS-vermittelten Inaktivierung von FVIIIa zukommt. Die Inaktivierung von FVa erfolgt durch Spaltungen an Arg306, Arg506 und Arg679 durch APC. Die Inaktivierung von FVac kann sowohl durch Thrombin bzw. FXa als auch durch APC erfolgen. **b** FVIII unterliegt schon intrazellulär proteolytischen Spaltungen innerhalb der B-Domäne, welche zu einem in der Zirkulation mit vWF assoziierten Heterodimer führen. Die physiologisch bedeutsame Aktivierung von FVIII erfolgt durch thrombinvermittelte Spaltungen an Arg372, Arg740 und Arg1.689. Die Inaktivierung von FVIIIa wird neben einer spontanen Dissoziation der A2-Domäne zum einen durch Spaltungen an Arg336 und Arg562 durch APC/PS/FVac vermittelt. Des Weiteren kann eine Inaktivierung ebenfalls über FXa durch Spaltungen an Arg336 und Lys36 und über FIXa durch Spaltung an Arg336 erfolgen. *APC* aktiviertes Protein C; *PS* Protein S; *R* Arginin (Arg); *K* Lysin (Lys)

$FV_1$ weist im Vergleich zu $FV_2$ ein höheres prokoagulatorisches Potenzial auf (Hoekema et al. 1997).

Die mittlere Plasmakonzentration des FV beträgt etwa 7 µg/ml, was einer molaren Konzentration von 20 nmol/l entspricht (Tracy et al. 1982). Die Halbwertszeit des FV beträgt ~12 h. Neben einer frei zirkulierenden Variante ist FV ebenfalls in den α-Granula von Thrombozyten gespeichert. Diese Form, welche mit dem Bindungsprotein Multimerin 1 (MMRN1) assoziiert ist (Jeimy et al. 2008), stellt etwa 25% der absoluten Menge an FV im Vollblut dar und liegt durch partiale proteolytische Spaltungen bereits in einer aktivierten Form vor (Gould et al. 2004). Es ist umstritten, ob die Anwesenheit von FV in Thrombozyten aus der Endozytose von FV in Megakaryozyten oder aus der direkten Synthese in diesen Zellen resultiert (Suehiro et al. 2005; Giampaolo et al. 2005).

### 18.1.2 Biosynthese, Struktur und Vorkommen von Faktor VIII

Das FVIII-Gen (F8) befindet sich auf dem langen Arm des X-Chromosoms (Xq28). Es umfasst mehr als 186 kbp und besteht aus 26 Exons. 24 Exons weisen eine Länge von 69–262 bp auf, während die Exons 14 (3.106 bp) und 26 (1.958 bp) deutlich länger sind. Ein Großteil von Exon 26 kodiert die 3‘-untranslatierte Region der resultierenden Faktor-VIII-Messenger-RNA (FVIII-mRNA; Thompson 2003). Innerhalb des mit 32 kbp längsten Introns des FVIII-Gens (Intron 22) finden sich die Transkriptionsstartpunkte zweier weiterer Gene, welche als F8A bzw. F8B bezeichnet und durch einen gemeinsamen, bidirektionalen Promotor kontrolliert werden. Während F8A intronlos mit einer mRNA von ~1,8 kbp in entgegengesetzter Richtung zu FVIII transkribiert wird (Levinson et al. 1990), erfolgt die Transkription von F8B in Leserichtung des FVIII. Hierbei umfassen die Transkripte ~2.5 kbp und basieren auf einem F8B-spezifischen Exon und den Exons 23–26 des F8-Gens (Levinson et al. 1992). Eine Funktion für die F8A- und F8B-Transkripte sowie für deren Translationsprodukte konnte bisher nicht ermittelt werden. Allerdings ist F8A bei der Intron-22-Inversion, welche etwa 50% aller schweren Hämophilien A zugrunde liegt, involviert, wobei ebenfalls 2 weitere Kopien dieses Gens – lokalisiert ~400 kbp vom 5‘-Ende (»upstream«) des FVIII-Gens – eine Rolle spielen (Oldenburg u. El-Maarri 2006).

Die mRNA von FVIII weist eine Länge von ~9 kbp auf und kodiert ein 2.351 AS umfassendes Präprotein inkl. eines 19 AS langen Signalpeptids. Das sekretierte Protein besteht aus 2.332 AS mit einem Molekulargewicht von ~300 kDa. Wie bereits beschrieben, basiert die Struktur des FVIII auf 3 A-Domänen (A1, A2, A3), 2 C-Domänen (C1 und C2) und 1 B-Domäne, welche entsprechend der Struktur des FV angeordnet sind. Hierbei werden die A-Domänen von jeweils einem aus ~30–40 vorwiegend sauren AS bestehenden Segment (a1, a2, a3) flankiert, sodass die Struktur des FVIII als A1-a1-A2-a2-B-a3-A3-C1-C2 dargestellt werden kann (Fay 2006).

Das ursprünglich einkettige FVIII-Molekül unterliegt schon intrazellulär proteolytischen Spaltungen am COOH-terminalen Ende und innerhalb der B-Domäne. Somit präsentiert sich FVIII als Heterodimer, welches sich aus einer 80 kDa umfassenden leichten Kette (a3-A3-C1-C2) und einer schweren Kette, bestehend aus den A1-A2-Domänen und variablen Abschnitten der B-Domäne, zusammensetzt (Vehar et al. 1984). Die beiden Ketten sind hierbei über eine metallionvermittelte Interaktion zwischen den Domänen A1 und A3 miteinander verbunden (▣ Abb. 18.1). In der Zirkulation ist FVIII mit hoher Affinität (Dissoziationskonstante $K_d$: ~0,3 nmol/l nichtkovalent mit Von-Willebrand-Faktor (vWF) komplexiert, welcher während der Sekretion als stabilisierendes Trägerprotein des FVIII fungiert (Hamer et al. 1987). Bei der Interaktion der beiden Proteine spielen sulfatierte Tyrosinreste zumindest innerhalb des a3-Segments des FVIII eine entscheidende Rolle (Leyte et al. 1989; Leyte et al. 1991).

Die Plasmakonzentration von FVIII weist starke interindividuelle Schwankungen auf und liegt mit durchschnittlich ~200 ng/ml unter der des FV. Die Halbwertszeit des FVIII in der Zirkulation beträgt etwa 12 h, wobei diese in der Abwesenheit von vWF auf ~2 h reduziert ist (Tuddenham et al. 1982).

## 18.2 Aktivierung, Funktion und Inaktivierung

Neben ihrer strukturellen Verwandtschaft weisen FV und FVIII starke Ähnlichkeiten hinsichtlich ihrer Regulation und physiologischen Funktion auf. Beide sind geschwindigkeitsbestimmende Kofaktoren für prokoagulatorisch wirkende Serinproteasen. Die Kofaktorfunktion setzt eine Aktivierung beider Faktoren durch Thrombin bzw. FXa voraus (Fay 2004).

Die Inaktivierung beider Kofaktoren erfolgt proteolytisch durch APC. FVIIIa wird zusätzlich durch die spontane Dissoziation einer für die prokoagulatorische Aktivität wichtigen Moleküldomäne inaktiviert (Parker et al. 2006).

Nach einer initialen Spaltung durch APC beschleunigt FV die APC-vermittelte Inaktivierung von FVIIIa und ist dadurch als FVac auch antikoagulatorisch wirksam. Aufgrund dieser Eigenschaften erweist sich FV als ein lokaler Sensor gerinnungsphysiologischer Ungleichgewichte, wobei seine unterstützende Rolle als Kofaktor durch die lokale Konzentration pro- bzw. antikoagulatorischer Enzyme wie Thrombin, FXa oder APC bestimmt wird. Dementsprechend wird FV auch als »Janus-faced protein« bezeichnet (Nicolaes u. Dahlbäck 2002).

### 18.2.1 Aktivierung, Funktion und Inaktivierung von Faktor V

#### FVa als prokoagulatorischer Kofaktor

Die Aktivierung von frei zirkulierendem FV zu einem prokoagulatorisch wirksamen Kofaktor erfolgt durch Spaltung an den Positionen Arg709, Arg1.018 und Arg1.545 (▣ Abb. 18.1) durch Thrombin bzw. FXa. In die Aktivierung durch Thrombin sind sulfatierte Tyrosinreste innerhalb der sauren b1- und b2-Segmente involviert (Pittman et al. 1994). FVa ist ein B-Domänen-deletiertes Heterodimer, bestehend aus einer 105 kDa umfassenden schweren (A1-A2) und einer 71 kDa ($FV_2a$) bzw. 74 kDa ($FV_1a$) umfassenden leichten Kette (A3-C1-C2), welche nichtkova-

lent über Kalziumion miteinander verbunden sind (Nicolaes et al. 1999).

Die Aktivierung von zirkulierendem FV resultiert in einer im Vergleich zu FV zumindest 400-fach erhöhten prokoagulatorischen Kofaktoraktivität (Nesheim et al. 1979). Thrombozytärer FV(a) erfährt durch FXa eine zusätzliche Aktivitätssteigerung um den Faktor 2–3, Thrombin spielt hierbei eine lediglich untergeordnete Rolle (Monković u. Tracy 1990).

Aktivierter FV fungiert als Kofaktor bei der von Kalziumionen abhängigen, durch FXa vermittelten Aktivierung von Prothrombin an Phosphilipidoberflächen. Hierbei führt die Anwesenheit von FVa im sog. Prothrombinasekomplex zu einer mehr als 10.000-fachen Verstärkung der Aktivierungsreaktion (Rosing u. Tans 1997).

Faktor Va bindet über die C-Domänen der leichten Kette an Phospholipide und dient so als Rezeptor für FXa, dessen Bindungsaffinität an die Phospholipidoberfläche durch die Anwesenheit von FVa um etwa das 100-fache gesteigert wird (Krishnaswamy 1990). Des Weiteren erhöht FVa die katalytische Effizienz ($k_{cat}/k_m$) von FXa bezüglich der Aktivierung von Prothrombin um den Faktor ~1.000 (Rosing et al. 1980), was in erster Linie aus einer FVa-vermittelten Erhöhung der Bindungsaffinität von Prothrombin an den Prothrombinasekomplex und somit einer entsprechenden Verringerung von $k_m$ resultiert (Segers et al. 2007).

In die Interaktion zwischen FVa und FXa sind beide Ketten des FVa involviert, insbesondere die A2-Domäne innerhalb der schweren Kette (Steen et al. 2008). An der Bindung von Prothrombin an FVa ist zumindest das COOH-terminale Ende der schweren Kette von FVa beteiligt (Bakker et al. 1994).

APC spaltet FVa an den Positionen Arg306, Arg506 und Arg679 (◘ Abb. 18.1). Eine kinetisch bevorzugte Spaltstelle ist Arg506. Die Spaltung an dieser Position vermindert die Affinität des FVa zu FXa um den Faktor 40 (Segers et al. 2007). Erst eine nachfolgende Spaltung an Position Arg306, assoziiert mit der kompletten Dissoziation der A2-Domäne, führt zu der kompletten Inaktivierung des FVa (Mann et al. 1997). Die Spaltung an Arg679 verläuft vergleichsweise langsam und weist eine untergeordnete physiologische Bedeutung auf (Asselta et al. 2006). Die proteolytische Aktivität von APC kann durch Phospholipide und den Kofaktor Protein S deutlich gesteigert werden (Norstrøm et al. 2003).

Innerhalb des Prothrombinasekomplexes verhindern sowohl FXa als auch gebundenes Prothrombin die Inaktivierung von FVa durch APC. Während FXa ausschließlich die Spaltung an Arg506 blockiert, konkurriert die Bindung von Prothrombin an FVa mit der Spaltung an Arg306 und Arg506. Der inhibitorische Effekt von FXa kann durch Protein S neutralisiert werden, während dies bei der Inhibierung durch Prothrombin nicht der Fall ist (Tran et al. 2008).

Alternativ zu APC kann die Inaktivierung von FVa durch Plasmin erfolgen (Omar u. Mann 1987). Hierbei resultiert eine initiale Spaltung der schweren Kette an Arg348 lediglich in einem minimalen Aktivitätsverlust, während nachfolgende Spaltungen an Lys309, Lys310 und Arg313 mit einem kompletten Verlust der FVa-Kofaktoraktivität einhergehen (Kalafatis u. Mann 2001). Auch in diesem Fall inhibieren sowohl FXa als auch Prothrombin die Spaltung von FVa (Omar u. Mann 1987).

Auf der Oberfläche von Endothelzellen kann eine partielle Inaktivierung von FVa durch Thrombin erfolgen (Hockin et al. 1997).

#### FVac als antikoagulatorischer Kofaktor

Die antikoagulatorische Aktivität von FV wird durch limitierte Proteolyse an Position Arg506 induziert (◘ Abb. 18.1; Shen u. Dahlbäck1994). Antikoagulatorisch wirksamer FVac ist prokoagulatorisch inaktiv (Váradi et al. 1995). Durch die thrombinvermittelte Proteolyse an Position Arg1.545, welche am COOH-terminalen Ende der B-Domäne lokalisiert ist, wird die antikoagulatorische Aktivität aufgehoben (Thorelli 1999). Eine Inaktivierung von FVac kann des Weiteren durch die APC-vermittelte Spaltung an Arg306 erfolgen (Nicolaes u. Dahlbäck 2002).

Die Inaktivierung von FVIIIa durch den APC/PS/FVac-Komplex erfolgt an der Oberfläche von Phospholipidmembranen. In Abwesenheit von PS weist FVac keine APC-Kofaktoraktivität auf, was auf einen synergistischen Effekt dieser beiden Kofaktoren schließen lässt (Shen u. Dahlbäck 1994).

### 18.2.2 Aktivierung, Funktion und Inaktivierung von Faktor VIII

Faktor VIII zirkuliert als Prokofaktor in einem nichtkovalenten Komplex mit vWF. Hierbei bilden die C-Domänen und das saure a3-Segment der leichten Kette des FVIII eine für diese Interaktion maßgebliche Konfiguration aus (Stoilova-McPhie et al. 2002). Die Assoziation von FVIII mit vWF führt zu einer deutlich verlängerten Halbwertszeit. Außerdem wird die Bindung der leichten und schweren Kette des FVIII stabilisiert und FVIII vor proteolytischen Spaltungen geschützt (Nogami et al. 2002).

Die Aktivierung von FVIII erfolgt durch eine thrombinvermittelte, limitierte Proteolyse an den Positionen Arg372 und Arg740 der schweren Kette und an Position Arg1.689 nahe dem $NH_2$-terminalen Ende der leichten Kette (◘ Abb. 18.1). Initial erfolgt die Spaltung an Arg740, welche die nachfolgenden Spaltungen an Arg372 und Arg1.689 fördert (Newell u. Fay 2007). An der Interaktion mit Thrombin sind sowohl die A2- und C2-Dömanen als auch sulfatierte Tyrosine innerhalb der sauren AS-Segmente a1-a3 des FVIII beteiligt (Thompson 2003; Fay 2004).

Die Spaltung an Arg1.689, welche das für die Interaktion mit vWF relevante a3-Segment ablöst, resultiert in einer 2.000-fach erniedrigten Affinität von FVIII zu vWF (Saenko u. Scandella 1997) bei gleichzeitig deutlich erhöhter Affinität zu Phospholipidoberflächen. Dies führt zu einer Trennung der beiden Moleküle (Hill-Eubanks et al. 1989). Die Spaltung an Arg740 führt zu einem kompletten Verlust der B-Domäne. Die Spaltung an Arg372 trennt die A1- von der A2-Domäne (Fay et al. 2001). Dementsprechend präsentiert sich FVIIIa als ein B-Domänen-deletiertes Heterotrimer mit einer 70 kDa umfassenden leichten Kette (A3-C1-C2) und einer schweren Kette, welche sich aus einer 50 kDa (A1-a1) und einer 40 kDa schweren Untereinheit (A2-a2) zusammensetzt (Eaton et al. 1986). Innerhalb des FVIIIa-Moleküls bleibt die für den Prokofaktor beschriebene, metallionvermittelte Interaktion zwischen den Domänen A1 und A3 erhalten, während die A2-Domäne über elektrostatische Wechselwirkungen reversibel mit der A1-Domäne assoziiert ist (Fay u. Smudzin 1992).

FXa aktiviert FVIII ebenfalls durch Spaltung an den Positionen Arg372, Arg740 und Arg1.689 (Eaton et al. 1986). Weitere Spaltstellen sind Arg336 und Lys36, welche allerdings mit einer Inaktivierung des FVIIIa-Moleküls verbunden sind (Nogami et al. 2003). Im Gegensatz zu der Aktivierung durch Thrombin ist die Spaltung des FVIII durch FXa nicht von sulfatierten Tyrosinresten innerhalb der sauren AS-Segmente a1-a3 abhängig (Michnick et al. 1994), während an der Interaktion der beiden Moleküle ebenfalls die C2-Domäne der leichten Kette, aber auch das saure AS-Segment a1 am COOH-terminalen Ende der A1-Domäne der schweren Kette beteiligt ist (Fay 2004).

Der Aktivierung von FVIII durch FXa kann physiologisch wahrscheinlich lediglich eine untergeordnete Rolle zugesprochen werden. So ist neben dem vorstehend beschriebenen Auftreten inaktivierender Spaltungen die Spaltung von FVIII durch FXa generell abhängig von der Anwesenheit von Phospholipiden (Eaton et al. 1986), was eine Aktivierung von vWF-assoziiertem FVIII ausschließt. Zudem blockiert vWF direkt die Bindung von FXa an FVIII (Nogami et al. 1999). Dementsprechend konnte in In-vitro-Versuchen mit Tissue-Factor-aktiviertem Plasma gezeigt werden, dass bei gleichzeitiger Inhibierung von Thrombin die Generierung von FXa nicht mit einer Aktivierung von FVIII in den Ansätzen korreliert (Pieters et al. 1989).

Aktivierter FVIII fungiert als Kofaktor bei der von Kalziumionen abhängigen, durch aktivierten Faktor IX (FIXa) vermittelten Aktivierung von Faktor X (FX) an Phospholipidoberflächen. Die Anwesenheit von FVIIIa im sog. Tenasekomplex führt zu einer bis zu $10^6$-fach verstärkten katalytischen Effizienz ($k_{cat}/k_m$) der Aktivierungsreaktion (Rawala-Sheikh et al. 1990).

Die Bildung des Tenasekomplexes basiert maßgeblich auf der hohen Affinität sowohl von FVIIIa ($K_d$: ~1 nmol/l) als auch von FIXa ($K_d$: ~15 nmol/l) zu Phospholipidoberflächen. Des Weiteren ist die Affinität von Faktor IXa zu FVIIIa durch die Bindung von FX deutlich gesteigert (Mathur et al. 1997). An der direkten Interaktion mit FIXa sind sowohl die A2- als auch die A3-Domäne des FVIIIa beteiligt (Fay 2004). Der A1-Domäne kommt eine entscheidende Rolle bei der korrekten Ausrichtung der A2-Domäne zu (Fay et al. 1999).

Die FVIIIa-vermittelte Steigerung der katalytischen Effizienz von FIXa ist auf eine durchschnittlich 100.000-fache Erhöhung von $k_{cat}$ zurückzuführen (Fay 2004). Hierbei kommt es durch die Bindung von FVIIIa zu einer Änderung der Konformation des FIXa-Moleküls, welche die zuvor durch den sog. »99-loop« (Chymotrypsinnummerierung) blockierte Substratbindungsstelle zugänglich macht (Hopfner et al. 1999). Des Weiteren erhöht FVIIIa innerhalb des Tenasekomplexes die Bindungsaffinität von FX, was in einer entsprechenden Verringerung von $k_m$ um den Faktor ~4 resultiert (Fay et al. 1999). Die hierfür maßgebliche Interaktion zwischen FVIIIa und FX kann vermutlich auf das COOH-terminale Ende der A1-Domäne (a1) von FVIIIa zurückgeführt werden (Lapan u. Fay 1998).

Nach Aktivierung unterliegt FVIII einer spontanen Dissoziation der für die Kofaktoraktivität entscheidenden Moleküldomäne A2, welche über elektrostatische Wechselwirkungen reversibel mit der A1-Domäne verbunden ist (Fay u. Smudzin 1992). Hierbei reduziert die Assoziation von FVIIIa mit dem Tenasekomplex die Rate der A2-Dissoziation um den Faktor ~10 (Fay et al. 1996). Trotz dieser Stabilisierung des FVIIIa-Moleküls kommt der spontanen Dissoziation der A2-Domäne physiologisch eine tragende Rolle hinsichtlich der Regulierung der FVIIIa-Kofaktoraktivität zu (Fay 2004).

Die Inaktivierung von FVIIIa erfolgt durch eine APC-vermittelte, limitierte Proteolyse an den Positionen Arg562 und Arg336 (■ Abb. 18.1). Die Spaltung an Arg336 ist kinetisch bevorzugt (Varfaj et al. 2006). Die Spaltung an Arg562 wird durch Protein S beschleunigt (O´Brien et al. 2000) und betrifft eine für die Interaktion mit FIXa relevante Molekülregion innerhalb der A2-Domäne.

Die Spaltung an Arg336 führt zu einem Verlust des sauren AS-Segments a1 am COOH-terminalen Ende der A1-Domäne (Fay et al. 1991). Dieses Segment ist für die korrekte Ausrichtung der A2-Domäne relevant. Innerhalb des Tenasekomplexes wird die APC-vermittelte Spaltung von FVIIIa an Arg562 durch FIXa und die Spaltung an Arg336 durch gebundenen FX gehemmt. Der inhibierende Effekt von FX wird durch Protein S aufgehoben (O'Brien et al. 2000).

Die Inaktivierung von FVIIIa durch eine Spaltung an Arg336 kann zudem durch FIXa und FXa erfolgen, wobei FXa ebenfalls an Lys36 zu spalten vermag (Nogami et al. 2003).

## 18.3 FV- und FVIII-Mangelerkrankungen

### 18.3.1 FVIII-Mangel (Hämophilie A)

Die Hämophilie A ist mit einer Inzidenz von ~1:8.000 bei männlichen Neugeborenen die häufigste schwere hereditäre Störung der Blutgerinnung, die durch unterschiedliche Mutationen innerhalb des auf dem X-Chromosom lokalisierten F8C-Gens hervorgerufen wird. In 40% der schweren Fälle liegt der Hämophilie A eine Inversion des Introns 22 zugrunde, welche mit einer intrachromosomalen Rekombination zwischen einem der »upstream« des F8C-Gens gelegenen F8A-Gene mit der im Intron 22 gelegenen Kopie assoziiert ist. Eine Inversion des Introns 1 und große Deletionen innerhalb des F8C-Gens begründen jeweils rund 5% der weiteren schweren Fälle der Hämophilie A. Die restlichen Fälle auch mittlerer und leichter Verlaufsformen der Hämophilie A werden durch unterschiedlichste Punktmutationen bzw. kleine Insertionen/Deletionen hervorgerufen (Castaldo et al. 2007).

Die Therapie der Hämophilie A erfolgt in der Regel durch die Infusion von FVIII-Konzentraten, welche aus plasmagereinigtem bzw. rekombinant hergestelltem FVIII bestehen (Lin et al. 2004). Bei leichten und mittelschweren Verlaufsformen kann gegebenenfalls auch die Applikation von Desmopressin (1-Desamino-8-D-Arginin-Vasopressin; DDAVP) erfolgen (► Kap. 50.1).

Eine Nebenwirkung der FVIII-Substitution ist die Ausbildung von inhibierenden Alloantikörpern (Hemmkörper), welche gegen verschiedene FVIII-Epitope gerichtet sein können und die Therapie negativ beeinflussen (Haya et al. 2007). Hiervon sind etwa 20–30% der Patienten betroffen, wobei die Inzidenz von der Art der zugrunde liegenden Mutation des F8C-Gens und somit auch vom Schweregrad der Erkrankung abhängt (Oldenburg u. Pavlova 2006). In seltenen Fällen (Inzidenz ca. 1:1.000.000) wurde auch die Bildung von Autoantikörpern gegen FVIII beschrieben (Franchini u. Lippi 2008).

### 18.3.2 FV-Mangel

Der hereditäre FV-Mangel ist mit einer Inzidenz von ~1:1.000.000 ein seltenes Krankheitsbild. Es treten in erster Linie quantitative Defekte auf, welche durch Punktmutationen oder kleine Deletionen im F5-Gen hervorgerufen werden. In 2/3 der Fälle führt die vorliegende Mutation zu dem Entstehen eines verfrühten Stoppkodons. Des Weiteren zeigten alle bisher charakterisierten Missense-Mutationen einen negativen Einfluss auf die Sekretion des translatierten Proteins. Der bislang einzige beschriebene qualitative FV-Mangel (FV New Brunswick) ist mit einer reduzierten Stabilität des entsprechenden FV-Proteins assoziiert (Asselta et al. 2006).

Aufgrund der fehlenden Verfügbarkeit eines FV-Konzentrats erfolgt die Therapie des FV-Mangels durch Substitution von gefrorenem Frischplasma (Mannucci et al. 2004).

Die Bildung von Hemmkörpern ist ein äußerst seltenes Ereignis. Bei den insgesamt 126 Fällen, welche zwischen 1955 und 2002 in der Literatur beschrieben wurden, kam es in 33% der Fälle zu Blutungskomplikationen. Das Auftreten von FV-Inhibitoren wurde unter anderem mit malignen und Autoimmunerkrankungen in Verbindung gebracht (Gadelha et al. 2008). Ein Großteil war jedoch augenscheinlich auf die Exposition mit in Fibrinkleber enthaltenem bovinem Thrombin bei chirurgischen Eingriffen zurückzuführen (Streiff u. Ness 2002).

### 18.3.3 Kombinierter FV/FVIII-Mangel

Mit einer Inzidenz von ~1:2.000.000 ist der kombinierte Mangel an FV und FVIII eine sehr seltene hereditäre Erkrankung, welche mit niedrigen Aktivitäten und Antigenkonzentrationen der beiden Kofaktoren einhergeht. In etwa 2/3 der Fälle liegen hier Mutationen innerhalb des LMAN1-(ERGIC-53)-Gens zugrunde, welches ein für den intrazellulären Transport und die Sekretion von FV und FVIII bedeutendes Chaperon kodiert. Auch Mutationen innerhalb des MCFD2-Gens, dessen Translationsprodukt als Kofaktor von LMAN1 dient, konnten als Grundlage eines kombinierten FV/FVIII-Mangels identifiziert werden (Asselta et al. 2006).

### 18.3.4 FV und FVIII als thrombophile Risikofaktoren

Erhöhte Faktor-VIII-Spiegel sind ein unabhängiger Risikofaktor für eine venöse Thrombose (Schambeck 2007). Die Identifizierung der Grundlage erhöhter FVIII-Spiegel ist bis heute weitgehend ungeklärt. Als eine Ursache für erhöhte FVIII-Spiegel konnte ein Polymorphismus in der B-Domäne des FVIII (C92714G) identifiziert werden, der mit einer erhöhten Sekretion des FVIII-Moleküls einhergeht (Viel et al. 2007).

Ein Zusammenhang zwischen erhöhten FV-Spiegeln und einem hierdurch erhöhten Thromboserisiko scheint nicht zu bestehen (Kamphuisen et al. 2000). Hinsichtlich des FV stellt die APC-Resistenz den häufigsten unabhängigen Risikofaktor für venöse Thrombosen dar (► Kap. 31.1.1).

## Literatur


Asselta R, Tenchini ML, Duga S (2006) Inherited defects of coagulation factor V: the hemorrhagic side. J Thromb Haemost 4: 26–34

Bakker HM, Tans G, Thomassen MC, Yukelson LY et al. (1994) Functional properties of human factor Va lacking the Asp683-Arg709 domain of the heavy chain. J Biol Chem 269: 20662–20667

Bukys MA, Orban T, Kim PY et al. (2006)The structural integrity of anion binding exosite I of thrombin is required and sufficient for timely cleavage and activation of factor V and factor VIII. J Biol Chem 281: 18569–18580

Castaldo G, D'Argenio V, Nardiello P et al. (2007) Haemophilia A: molecular insights. Clin Chem Lab Med 45: 450–461

Church WR, Jernigan RL, Toole J et al. (1984) Coagulation factors V and VIII and ceruloplasmin constitute a family of structurally related proteins. Proc Natl Acad Sci USA 81: 6934–6937

Eaton D, Rodriguez H, Vehar GA (1986) Proteolytic processing of human factor VIII. Correlation of specific cleavages by thrombin, factor Xa, and activated protein C with activation and inactivation of factor VIII coagulant activity. Biochemistry 25: 505–512

Fay PJ (2004) Activation of factor VIII and mechanisms of cofactor action. Blood Rev 18: 1–15

Fay PJ (2006) Factor VIII structure and function. Int J Hematol 83: 103–108

Fay PJ, Smudzin TM (1992) Characterization of the interaction between the A2 subunit and A1/A3-C1-C2 dimer in human factor VIIIa. J Biol Chem 267: 13246–13250

Fay PJ, Smudzin TM, Walker FJ (1991) Activated protein C-catalyzed inactivation of human factor VIII and factor VIIIa. Identification of cleavage sites and correlation of proteolysis with cofactor activity. J Biol Chem 266: 20139–20145

Fay PJ, Beattie TL, Regan LM et al. (1996) Model for the factor VIIIa-dependent decay of the intrinsic factor Xase. Role of subunit dissociation and factor IXa-catalyzed proteolysis. J Biol Chem 1996; 271: 6027–6032

Fay PJ, Koshibu K, Mastri M (1999) The A1 and A2 subunits of factor VIIIa synergistically stimulate factor IXa catalytic activity. J Biol Chem 274: 15401–15406

Fay PJ, Mastri M, Koszelak ME et al. (2001) Cleavage of factor VIII heavy chain is required for the functional interaction of a2 subunit with factor IXA. J Biol Chem 276: 12434–12439

Franchini M, Lippi G (2008) Acquired factor VIII inhibitors. Blood 112: 250–255

Gadelha T, Aquino JH, Assunção e Silva E et al. (2008) The diversity in clinical presentation of acquired factor V inhibitor. Two case reports. Acta Haematol 119: 108–110

Giampaolo A, Vulcano F, Macioce G et al. (2005) Factor-V expression in platelets from human megakaryocytic culture. Br J Haematol 128: 108–111

Gould WR, Silveira JR, Tracy PB (2004) Unique in vivo modifications of coagulation factor V produce a physically and functionally distinct platelet derived cofactor: characterization of purified platelet derived factor V/Va. J Biol Chem 279: 2383–2393

Hamer RJ, Koedam JA, Beeser-Visser NH et al. (1987) Factor VIII binds to von Willebrand factor via its Mr-80,000 light chain. Eur J Biochem 166: 37–43

Haya S, Moret A, Cid AR et al. (2007) Inhibitors in haemophilia A: current management and open issues. Haemophilia 13(Suppl5): 52–60

Hill-Eubanks DC, Parker CG, Lollar P (1989) Differential proteolytic activation of factor VIII-von Willebrand factor complex by thrombin. Proc Natl Acad Sci USA 86: 6508–6512

Hockin MF, Kalafatis M, Shatos M et al. (1997) Protein C activation and factor Va inactivation on human umbilical vein endothelial cells. Arterioscler Thromb Vasc Biol 17: 2765–2775

Hoekema L, Nicolaes GA, Hemker HC et al. (1997) Human factor Va1 and factor Va2: properties in the procoagulant and anticoagulant pathways. Biochemistry 36: 3331–3335

Hopfner KP, Lang A, Karcher A et al. (1999) Coagulation factor IXa: the relaxed conformation of Tyr99 blocks substrate binding. Structure 7: 989–996

Jeimy SB, Tasneem S, Cramer EM et al. (2008) Multimerin 1. Platelets 19: 83–95

Jenny RJ, Pittman DD, Toole JJ et al. (1987) Complete cDNA and derived amino acid sequence of human factor V. Proc Natl Acad Sci USA 84: 4846–4850

Kalafatis M, Mann KG (2001) The role of the membrane in the inactivation of factor Va by plasmin. Amino acid region 307-348 of factor V plays a critical role in factor Va cofactor function. J Biol Chem 276: 18614–18623

Kamphuisen PW, Rosendaal FR, Eikenboom JC et al. (2000) Factor V antigen levels and venous thrombosis: risk profile, interaction with factor V leiden, and relation with factor VIII antigen levels. Arterioscler Thromb Vasc Biol 20: 1382–1386

Krishnaswamy S (1990) Prothrombinase complex assembly. Contributions of protein-protein and protein-membrane interactions toward complex formation. J Biol Chem 265: 3708–3718

Lapan KA, Fay PJ (1998) Interaction of the A1 subunit of factor VIIIa and the serine protease domain of factor X identified by zero-length cross-linking. Thromb Haemost 80: 418–422

Levinson B, Kenwrick S, Lakich D et al. (1990) A transcribed gene in an intron of the human factor VIII gene. Genomics 7 :1–11

Levinson B, Kenwrick S, Gamel P et al. (1992) Evidence for a third transcript from the human factor VIII gene. Genomics 14: 585–589

Leyte A, Verbeet MP, Brodniewicz-Proba T et al. (1989) The interaction between human blood-coagulation factor VIII and von Willebrand factor. Characterization of a high-affinity binding site on factor VIII. Biochem J 257: 679–683

Leyte A, van Schijndel HB, Niehrs C et al. (1991) Sulfation of Tyr1680 of human blood coagulation factor VIII is essential for the interaction of factor VIII with von Willebrand factor. J Biol Chem 266: 740–746

Lin Y, Yang X, Chevrier MC et al. (2004) Relationships between factor VIII:Ag and factor VIII in recombinant and plasma derived factor VIII concentrates. Haemophilia 10: 459–469

Mann KG, Hockin MF, Begin KJ et al. (1997) Activated protein C cleavage of factor Va leads to dissociation of the A2 domain. J Biol Chem 272: 20678–20683

Mannucci PM, Duga S, Peyvandi F (2004) Recessively inherited coagulation disorders. Blood 104: 1243–1252

Mathur A, Zhong D, Sabharwal AK et al. (1997) Interaction of factor IXa with factor VIIIa. Effects of protease domain $Ca^{2+}$ binding site, proteolysis in the autolysis loop, phospholipid, and factor X. J Biol Chem 272: 23418–23426

Michnick DA, Pittman DD, Wise RJ et al. (1994) Identification of individual tyrosine sulfation sites within factor VIII required for optimal activity and efficient thrombin cleavage. J Biol Chem 269: 20095–20102

Monković DD, Tracy PB (1990) Functional characterization of human platelet-released factor V and its activation by factor Xa and thrombin. J Biol Chem 265: 17132–17140

Nesheim ME, Taswell JB, Mann KG (1979) The contribution of bovine Factor V and Factor Va to the activity of prothrombinase. J Biol Chem 254: 10952–10962

Newell JL, Fay PJ (2007) Proteolysis at Arg740 facilitates subsequent bond cleavages during thrombin-catalyzed activation of factor VIII. J Biol Chem 282: 25367–25375

Nicolaes GA, Dahlbäck B (2002) Factor V and thrombotic disease: description of a janus-faced protein. Arterioscler Thromb Vasc Biol 22: 530–538

Nicolaes GA, Villoutreix BO, Dahlbäck B (1999) Partial glycosylation of Asn2181 in human factor V as a cause of molecular and functional heterogeneity. Modulation of glycosylation efficiency by mutagenesis of the consensus sequence for N-linked glycosylation. Biochemistry 38: 13584–13591

Nogami K, Shima M, Hosokawa K et al. (1999) Role of factor VIII C2 domain in factor VIII binding to factor Xa. J Biol Chem 274: 31000–31007

Nogami K, Shima M, Nishiya K et al. (2002) A novel mechanism of factor VIII protection by von Willebrand factor from activated protein C-catalyzed inactivation. Blood 99: 3993–3998

Nogami K, Wakabayashi H, Fay PJ (2003) Mechanisms of factor Xa-catalyzed cleavage of the factor VIIIa A1 subunit resulting in cofactor inactivation. J Biol Chem 278: 16502–16509

Norstrøm EA, Steen M, Tran S et al. (2003) Importance of protein S and phospholipid for activated protein C-mediated cleavages in factor Va. J Biol Chem 278: 24904–24911

O´Brien LM, Mastri M, Fay PJ (2000) Regulation of factor VIIIa by human activated protein C and protein S: inactivation of cofactor in the intrinsic factor Xase. Blood 95: 1714–1720

Oldenburg J, El-Maarri O (2006) New insight into the molecular basis of hemophilia A. Int J Hematol 83: 96–102

Oldenburg J, Pavlova A (2006) Genetic risk factors for inhibitors to factors VIII and IX. Haemophilia 12(Suppl.6): 15–22

Omar MN, Mann KG (1987) Inactivation of factor Va by plasmin. J Biol Chem 262: 9750–9755

Parker ET, Doering CB, Lollar P (2006) A1 subunit-mediated regulation of thrombin activated factor VIII A2 subunit dissociation. J Biol Chem 281: 13922–13930

Pieters J, Lindhout T, Hemker HC (1989) In situ-generated thrombin is the only enzyme that effectively activates factor VIII and factor V in thromboplastin activated plasma. Blood 74: 1021–1024

Pittman DD, Tomkinson KN, Michnick D et al. (1994) Posttranslational sulfation of factor V is required for efficient thrombin cleavage and activation and for full procoagulant activity. Biochemistry 33: 6952–6959

Rawala-Sheikh R, Ahmad SS, Ashby B et al. (1990) Kinetics of coagulation factor X activation by platelet-bound factor IXa. Biochemistry 29: 2606–2611

Rosing J, Tans G (1997) Factor V Int J Biochem Cell Biol 29: 1123–1126

Rosing J, Tans G, Govers-Riemslag JW et al. (1980) The role of phospholipids and factor Va in the prothrombinase complex. J Biol Chem 255: 274–283

Saenko EL, Scandella D (1997) The acidic region of the factor VIII light chain and the C2 domain together form the high affinity binding site for von willebrand factor. J Biol Chem 272: 18007–18014

Schambeck CM (2007) The Janus face of coagulation factors. High levels, high thromboembolic risk? Hamostaseologie 27: 268–272

Segers K, Dahlbäck B, Nicolaes GA (2007) Coagulation factor V and thrombophilia: background and mechanisms. Thromb Haemost 98: 530–542

Shen L, Dahlbäck B (1994) Factor V and protein S as synergistic cofactors to activated protein C in degradation of factor VIIIa. J Biol Chem 269: 18735–18738

Steen M, Tran S, Autin L et al. (2008) Mapping of the factor Xa binding site on factor Va by site-directed mutagenesis. J Biol Chem 283: 20805–20812

Stoilova-McPhie S, Villoutreix BO, Mertens K et al. (2002) 3-Dimensional structure of membrane-bound coagulation factor VIII: modeling of the factor VIII heterodimer within a 3-dimensional density map derived by electron crystallography. Blood 99: 1215–1223

Streiff MB, Ness PM (2002) Acquired FV inhibitors: a needless iatrogenic complication of bovine thrombin exposure. Transfusion 42: 18–26

Suehiro Y, Veljkovic DK, Fuller N et al. (2005) Endocytosis and storage of plasma factor V by human megakaryocytes. Thromb Haemost 94: 585–592

Thompson AR (2003) Structure and function of the factor VIII gene and protein. Semin Thromb Hemost 2911–2922

Thorelli E (1999) Mechanisms that regulate the anticoagulant function of coagulation factor V. Scand J Clin Lab Invest Suppl 229: 19–26

Tracy PB, Eide LL, Bowie EJ et al. (1982) Radioimmunoassay of factor V in human plasma and platelets. Blood 60 : 59–63

Tran S, Norstrøm E, Dahlbäck B (2008) Effects of prothrombin on the individual activated protein C-mediated cleavages of coagulation factor Va. J Biol Chem 283 :6648–6655

Tuddenham EG, Lane RS, Rotblat F et al. (1982) Response to infusions of polyelectrolyte fractionated human factor VIII concentrate in human haemophilia A and von Willebrand's disease. Br J Haematol 52: 259–267

Váradi K, Rosing J, Tans G et al. (1995) Influence of factor V and factor Va on APC-induced cleavage of human factor VIII. Thromb Haemost 73: 730–731

Varfaj F, Neuberg J, Jenkins PV et al. (2006) Role of P1 residues Arg336 and Arg562 in the activated-Protein-C-catalysed inactivation of Factor VIIIa. Biochem J 396: 355–362

Vehar GA, Keyt B, Eaton D, Rodriguez et al. (1984) Structure of human factor VIII. Nature 312: 337–342

Viel KR, Machiah DK, Warren DM et al. (2007) A sequence variation scan of the coagulation factor VIII (FVIII) structural gene and associations with plasma FVIII activity levels. Blood 109: 3713–3724

Zhang B, McGee B, Yamaoka JS et al. (2006) Combined deficiency of factor V and factor VIII is due to mutations in either LMAN1 or MCFD2. Blood 107: 1903–1907

# 16 Vitamin-K-abhängige Gerinnungsfaktoren

*K. T. Preissner*

## Einleitung

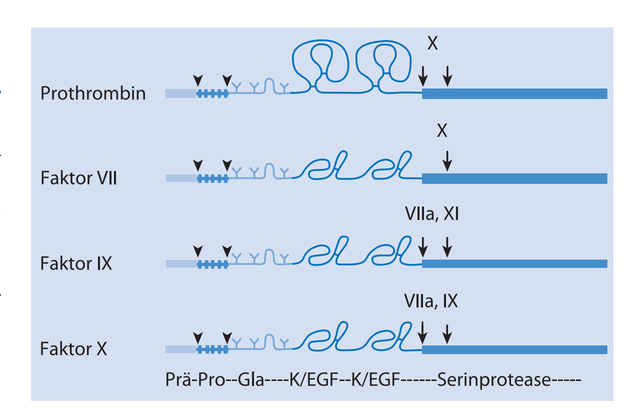
Gemeinsames Merkmal der prokoagulatorischen Gerinnungsfaktoren VII, IX, X und II ist die posttranslationale γ-Carboxylierung von Glutaminsäureresten. Dieser Stoffwechselprozess erfolgt Vitamin-K-abhängig in der Leber. Die sezernierten Gerinnungsfaktoren zirkulieren im Blut als inaktive Proenzyme. Sie werden nach Bindung an negativ geladene Oberflächen durch proteolytische Spaltung im Rahmen der Gerinnungsaktivierung in die aktiven Serinproteasen überführt. Aufgrund von Mutationen oder Mangelerscheinungen dieser Faktoren kommt es zu Störungen im plasmatischen Gerinnungssystem.

## 16.1 Die Vitamin-K-abhängigen FaktorenVII, IX, X und II

### 16.1.1 Biosynthese und Prozessierung

Die Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsproteine werden in den Hepatozyten der Leber exprimiert, posttranslational modifiziert und als inaktive Proenzyme ins Blut sezerniert. Die Struktur der Gene dieser Faktoren ist bezüglich ihrer Exon-Intron-Übergänge und der Positionen in den kodierenden Bereichen sehr homolog, sodass es nicht verwunderlich ist, dass alle Faktoren als primäre Translationsprodukte eine ähnliche modulare Proteinstruktur als Prä-Pro-Zymogene aufweisen. Folgende Domänen (vom Amino- zum Carboxyterminus) können unterschieden werden:

- Signalpeptid (Fixierung in der Membran des endoplasmatischen Retikulums, ER)
- Propeptid, Gla-Domäne (Kalziumbindung)
- 2 Kringledomänen (Faktor II) bzw. 2 Wachstumsfaktordomänen (Faktoren VII, IX und X)
- gefolgt von der trypsinähnlichen Domäne, die die für Serinproteasen charakteristische katalytische Triade (Ser-His-Asp) enthält (Davie 1995; ◘ Abb. 16.1).




◘ **Abb. 16.1.** Schematische Struktur der Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren II (Prothrombin), VII, IX und X. Die Abfolge der Domänen im modularen Aufbau der Proenzyme sowie die proteolytischen Prozessierungsstellen (*Pfeilkopf* Endoplasmatisches Retikulum; *Pfeil* Aktivierung im Rahmen der Blutgerinnung) in der Aminosäuresequenz sind angegeben. *Prä* Signalpeptid; *Pro* Propeptid; *Gla* Gla-Domäne; *K* Kringledomäne; *EGF* Wachstumsfaktordomäne

Nach Abspaltung des Signalpeptids erfolgt in den Gla-Domänen die durch die γ-Glutamylcarboxylase (GGCX) im ER katalysierte Modifizierung der Proteine unter Beteiligung von Vitamin K, $O_2$ und $CO_2$. Die Substraterkennung wird über die unter den Gerinnungsfaktoren hoch konservierten Propeptidsequenzen reguliert, die sich von denen aller anderen Proteine im ER des Hepatozyten unterscheidet (Jorgensen et al. 1987). Unter Bildung des Vitamin-K-Epoxids entsteht ein Redoxpotenzial, das die treibende Kraft für die Carboxylierung von je 10–12 Glutaminsäureresten in den Gla-Domänen der Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren liefert. Nach Regenerierung des Vitamin-K-Epoxids durch die Vitamin K-Epoxidreduktase (Rost et al. 2004) durchläuft Vitamin K mehr als 1.000-mal diesen Zyklus zwischen Hydrochinon und Epoxidform, bevor es eliminiert wird. Nach erfolgter γ-Carboxylierung wird durch Abspaltung des Propeptids anhand einer furinähnlichen Konvertase der Aminoterminus des reifen Proenzyms frei. Nach weiterer Glykosylierung der Proteine werden diese ins Blut sezerniert.

Neben den prokoagulatorischen Faktoren sind 3 strukturhomologe Vitamin-K-abhängige Hämostaseproteine mit antikoagulatorischen Funktionen bekannt: Protein C, Protein S und Protein Z.

Protein C hat einen mit Faktor VII, IX und X vergleichbaren modularen Aufbau als Serinprotease, während die Proteine S und Z keine enzymatische Funktion aufweisen. Vielmehr verstärken sie als kalziumbindende und damit über ihre Gla-Domäne mit der aktivierten Phospholipidmembran assoziierte Kofaktoren entweder die Aktivität von aktiviertem Protein C (Protein S; Dahlbäck u. Villoutreix 2005) oder Protein Z unterstützt die Anti-Faktor-Xa-Wirkung des Protein-Z-abhängigen Proteaseinhibitors (ZPI; Corral et al. 2007).

Nur in der γ-carboxylierten Form können die genannten (Pro-)Enzyme und Kofaktoren über Kalziumbrücken an der verletzten Gefäßwand bzw. den aktivierten Thrombozyten konzentriert und in den Enzymkomplexen der

Blutgerinnung aktiv werden. Neben den kalziumabhängigen elektrostatischen Interaktionen der Gla-Domäne mit der aktivierten Zellmembran sind hydrophobe Wechselwirkungen zur Stabilisierung der Gerinnungsfaktor-Phospholipid-Bindung notwendig (Huang et al. 2003).

### 16.1.2 Vitamin-K-Antagonisten

Orale Antikoagulanzien vom Cumarintyp (z. B. Phenprokumon, Warfarin) hemmen die Aktivität der Vitamin K-Epoxidreduktase (Rost et al. 2004) im ER des Leberparenchyms. Hierdurch wird die Konzentration an Vitamin-K-Hydrochinon vermindert, sodass ein (iatrogen induzierter) Vitamin-K-Mangel entsteht. Aufgrund der fehlenden γ-Carboxylierung kommt es zu einer verminderten Kalziumbindung und damit zu einer eingeschränkten Aktivität der prokoagulatorischen Faktoren VII, IX, X und II sowie der antikoagulatorischen Proteine C, S und Z. Je nach Konzentration der Cumarinantikoagulanzien sind die Gerinnungsfaktoren im Extremfall unwirksam (»proteins induced by Vitamin K absence«; PIVKA; zur Therapie und Monitoring ► Kap. 51.3 und 72).

## 16.2 Faktor VII/VIIa

### 16.2.1 Struktur

Humaner Faktor VII ist ein Glykoprotein mit 406 Aminosäuren (relative Molmasse $M_r$: 50.000) und zirkuliert im Plasma überwiegend als Zymogen (10 nmol/l, 0,5 µg/ml), während ein Bruchteil davon (ca. 1%) als aktive Protease vorliegt. Aufgrund seiner geringen Halbwertszeit im Kreislauf von ca. 5 Stunden ist Faktor VII das bei einem Leberschaden als erstes im Plasma abfallende Vitamin-K-abhängige Proenzym. Die Aktivierung des Einkettenproenzyms in die zweikettige aktive Protease erfolgt durch Spaltung einer einzigen Peptidbindung (Arg152-Ile153), katalysiert durch Faktor Xa (oder andere Proteasen) bzw. mittels Autokatalyse in der Gegenwart von Tissue Factor (TF; Perry 2002). Durch positive Rückkopplungsaktivierung ist Faktor IXa verantwortlich für basale Spiegel von Faktor VIIa, die jedoch bei Hämophilie-B-Patienten nur sehr gering sind. Die leichte Kette von Faktor VIIa trägt die Gla-Domäne und ist durch eine Disulfidbrücke mit der schweren Kette verknüpft, auf der die katalytische Triade der Serinprotease lokalisiert ist (◘ Abb. 16.1).

In vitro wurde eine zunächst im Prothrombinkonzentrat angereicherte Protease als effektiver, TF-unabhängiger Aktivator von Faktor VII identifiziert (Römisch 2002) und als »Faktor-VII-aktivierende Protease« (FSAP) bezeichnet. FSAP ist identisch mit einem zuvor beschriebenen hyaluronsäurebindenden Plasmaprotein (Choi-Miura et al. 2001) und wird durch Polyanionen wie Heparin oder RNA autokatalytisch in die Proteaseform überführt (Kannemeier et al. 2001; Nakazawa et al. 2005). Ob FSAP in vivo nach Gefäßverletzung, aktiviert durch auftretende extrazelluläre RNA, die Faktor-VII-Aktivierung stimuliert und damit den extrinsischen Aktivierungsweg in Gang setzt, ist nicht gesichert. Eine weitere membranassoziierte Protease, Hepsin, die in verschiedenen Geweben und vor allem im Prostatakarzinom exprimiert wird, wirkt als potenter Aktivator der Faktoren VII, XI und XII in vitro (Wu u. Parry 2007). Ein Gen-Knockout der Protease in der Maus hat keinen Einfluss auf die Embryonalentwicklung oder das Hämostasesystem, sodass Hepsin als physiologischer Aktivator von Faktor VII keine Rolle spielt.

### 16.2.2 Aktivierung und Regulation

Neben den 10 Gla-Resten, die die kalziumabhängige Membranbindung von Faktor VII garantieren, liegt noch ein β-Hydroxy-Asp-Rest im aminoterminalen Bereich des Proteins vor, der für die gerinnungsfördernde Aktivität unerheblich ist. Die Stabilität und damit die Halbwertszeit von Faktor VII/VIIa wird durch mehrere Glykosylierungen im Molekül positiv beeinflusst. Zur Bestimmung der Faktor-VII-Aktivität wird die Prothrombinzeit herangezogen, die – je nach Verhältnis zwischen Faktor-VII-Zymogen und präaktiviertem VIIa und abhängig von der TF-Quelle – Variationen im Ergebnis zeigen kann (Poggio et al. 1991).

Neben der klassischen Funktion von Faktor VIIa als Proteaseligand von TF in der extrinsischen (VIIa-TF-X) und intrinsischen (VIIa-TF-IX) »Tenase« im Rahmen der Aktivierung des Blutgerinnungssystems kann mikropartikelassoziierter zirkulierender TF (zusammen mit VIIa, X und IX) eine Thrombinbildung über den »intravascular TF-pathway« auslösen (Müller et al. 2003). Dabei führt die Bildung von Konjugaten aus Blutplättchen und neutrophilen Leukozyten unter Degradierung des Tissue Factor Pathway Inhibitor (TFPI) mittels leukozytärer Proteasen zur Bildung einer prothrombotischen Situation (Engelmann et al. 2003), wie sie von kardiovaskulären Risikopatienten her bekannt ist. Zur Thromboseprophylaxe können therapeutische Gaben von TFPI vor allem in der Mikrozirkulation und bei Sepsis eine effektivere Kontrolle der Blutgerinnungsaktivierung erzielen. Weiterhin wird TF als Faktor-VII-Rezeptor nach Stimulation oder unter inflammatorischen Bedingungen auf Monozyten hochreguliert, sodass diese Zellen mit zur Hyperkoagulabilität im Rahmen kardiovaskulärer Komplikationen oder Sepsis beitragen (Ruf u. Edgington 1994).

In isolierter Form sowie gebunden an seinen Rezeptor/Kofaktor TF wird Faktor VIIa primär durch den Kunitz-

Typ-Proteaseinhibitor TFPI inaktivert, der z. T. gebunden an Lipoproteine zirkuliert oder an Heparansulfatproteoglykane gebunden bzw. mittels Glykolipidanker an das Gefäßendothel fixiert ist (▶ Kap. 15.2).

### 16.2.3 Genmutationen, Mangelerscheinungen, Gen-Knockout

Das Faktor-VII-Gen ist in Nachbarschaft zum Faktor-X-Gen auf dem langen Arm des Chromosoms 13 lokalisiert. Mehrere Polymorphismen des Faktor-VII-Gens sind beschrieben, von denen einige die Syntheserate in der Leber bzw. die enzymatische Aktivität des Faktors VIIa oder seine Bindung an TF beeinflussen können (Perry 2002). Der hereditäre Faktor-VII-Mangel mit einem autosomal rezessiven Erbgang ist mit einer Prävalenz von 1:300.000–500.000 der »häufigste« unter den seltenen erblichen Mangelerscheinungen von Gerinnungsfaktoren.

Bislang ungeklärt ist die beobachtete schlechte Korrelation zwischen niedrigen Faktor-VII-Spiegeln und einem Blutungsrisiko. Auch ist das Spektrum der Blutungskomplikationen (z. B. zerebrale Blutungen, Menorrhagien) bei einem Faktor-VII-Mangel recht heterogen (Perry 2002). Umgekehrt wird die Korrelation eines erhöhten Faktor-VII/VIIa-Spiegels als unabhängiger Risikofaktor im Rahmen kardiovaskulärer Erkrankungen aufgrund unterschiedlicher Studienergebnisse kontrovers diskutiert.

Der Knockout des TF-Gens in der Maus (Toomey et al. 1996) führt aufgrund mangelnder Angiogenese zum Absterben des Embryos während der Initialphase seiner Gefäßentwicklung. Mechanistisch wirkt TF dabei in von Faktor VIIa unabhängiger Weise als potenter, gefäßstabilisierender Faktor, was auch bei der Tumorangiogenese der Fall ist (Zhang et al. 1994).

Nach Ausschaltung des Faktor-VII-Gens in der Maus (Rosen et al. 1997) verläuft die Embryonalentwicklung zwar unauffällig, die frühe postnatale Phase wird aufgrund von massiven Blutungskomplikationen aber nicht überlebt. Überraschenderweise kann die intrauterine Letalität eines TFPI-Knockout durch Ausschaltung des Faktor-VII-Gens aufgehoben werden (Chan et al. 1999), was wiederum für die bedeutende Rolle des TF/TFPI-Systems im Rahmen morphogenetischer Prozesse während der Embryogenese spricht.

### 16.2.4 Zelluläre Funktionen und Therapie

Sowohl Faktor-VIIa-abhängige als auch -unabhängige Signaltransduktion wird durch TF auf verschiedenen Zelltypen vermittelt, wobei vor allem die Rolle von TF als Metastasierungsfaktor in Bezug auf Zellmigration und Invasion von Bedeutung ist. Aufgrund der Nachbarschaft von TF-gebundenem Tenasekomplex und proteaseaktivierten Rezeptoren (PAR-1 und PAR-2) auf bestimmten (Tumor-) Zellen wird eine TF-abhängige Faktor-Xa-mediierte Signaltransduktion ausgelöst (Ruf et al. 2003; ▶ Kap. 14). Diese führt z. B. zur Produktion von inflammatorischen Zytokinen oder angiogenen Wachstumsfaktoren, die zusammen mit der gesteigerten Blutgerinnung Tumorwachstum und Metastasierung fördern.

## 16.3 Faktor IX/IXa

### 16.3.1 Struktur, Aktivierung und Regulation

Faktor IX und sein Kofaktor Faktor VIII sind die beiden auf dem X-Chromosom lokalisierten Gerinnungsfaktoren, die von der Leber als inaktive Vorstufen ins Blut sezerniert werden. Als einkettiges Glykoprotein (415 Aminosäuren, $M_r$: 57.000, 12 Gla-Reste) weist Faktor IX in seinem modularen Aufbau beachtliche Homologien zu den Vitamin-K-abhängigen Proteinen Faktor VII, Faktor X, Protein C und Protein S auf (◘ Abb. 16.1). Neben der γ-Carboxylierung sowie Glykosylierungen an mehreren Stellen des Proteins wird Faktor IX im Laufe der Biosynthese durch partielle Hydroxylierung, Sulfatierung und Phosphorylierung posttranslational modifiziert.

**◘ Tab. 16.1.** Eigenschaften der Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren

| Faktor | Relative Molekularmasse | Plasmakonzentration [μmol/l] | Halbwertszeit [h] | Chromosom/Exons | Gen-Knockout (Maus) |
|---|---|---|---|---|---|
| VII | 50.000 | 0,01 | 3–6 | 13/9 | Perinatal letal |
| IX | 57.000 | 0,04–0,1 | 20–24 | X/8 | Blutung, Hämophilie B |
| X | 59.000 | 0,16 | 30–40 | 13/8 | Letal in utero |
| II | 72.000 | 1,2 | 48–60 | 11/14 | Embryonal, perinatal letal |

Die proteolytische Aktivierung des Proenzyms, die unter Bildung der zweikettigen Protease und eines Aktivierungspeptids verläuft, erfolgt an 2 Spaltstellen entweder im extrinsischen VIIa-TF-IX-Komplex oder im intrinsischen XIa-Kininogen-IX-Komplex auf der aktivierten Plättchenoberfläche. Hier fungiert der Von-Willebrand-Faktor-(vWF-)-Rezeptor (GP-Ib-IX-V-Komplex) als Faktor-XI-Bindungsprotein, sodass eine effektive Faktor-XIa-Generierung durch Thrombin möglich ist (Baglia et al. 2002). Die dadurch eingeleitete Generierung von Faktor IXa und in Folge die Bildung von Faktor Xa durch die intrinsische Tenase (IXa-VIIIa-X) sind notwendig, um die Inhibierung der extrinsischen Tenase durch TFPI zu überspielen.

Die relative Bedeutung der extrinsischen/intrinsischen Aktivierung von Faktor IX wird ersichtlich aus der Tatsache, dass ein Faktor-XI-Mangel mit relativ milden Blutungskomplikationen verknüpft ist, während ein Faktor-VII-Mangel zu schweren Störungen der Blutgerinnung führen kann (Schmidt u. Bajaj 2003). Ob die beschriebene Bindung von Faktor IX/IXa an extrazelluläre Matrix die Blutgerinnungsaktivierung beeinflusst, ist nicht gesichert (Cheung et al. 1996). Die Klärung von Faktor IX/IXa (bzw. Faktor-IX/IXa-Komplexen) auf zellulärer Ebene erfolgt vor allem über das mit dem LDL-Rezeptor verwandte LRP (»low density lipoprotein receptor-related protein«), wobei Proteoglykane eine Kofaktorfunktion haben (Neels et al. 2000).

### 16.3.2 Genmutationen, Mangelerscheinungen, Gen-Knockout

Die im Faktor IX auftretenden genetischen Varianten können in Einzelnukleotidpolymorphismen bzw. Längenpolymorphismen (Mikrosatelliten) unterteilt werden und zeigen vielfach ethnische Variationen. Auch sind die Polymorphismen im Faktor-IX-Gen nicht auf den kodierenden Bereich beschränkt. Als Ursache der Hämophilie B wurden Punktmutationen (90%), Deletionen (5–10%) sowie Insertionen oder Genumlagerungen (sehr selten) identifiziert, die alle mit einer Hämophilie unterschiedlichen Schweregrades verknüpft sind. Nicht in jedem Fall wurde die Kausalbeziehung zwischen molekularem Defekt und Phänotyp nachgewiesen. So kommt eine sehr seltene Variante des Faktors-IX-Leiden durch einen Basenaustausch in der Promotorregion des Gens zustande, während bei anderen Varianten z. B. die Aktivierung des Proenzyms durch Faktor XIa beeinträchtigt ist oder die Bindung des Enzyms an Faktor VIIIa nicht stattfindet (Bowen 2002).

Durch den X-chromosomalen, rezessiven Erbgang führt ein kompletter Mangel an Faktor IX bei männlichen Patienten in der Regel zur stark ausgeprägter Hämophilie B (1:30.000), während in nur ganz seltenen Fällen auch weibliche Patienten betroffen sind. Mechanistisch gesehen, beruhen die Blutungskomplikationen bei Hämophilie-B-(und -A-)Patienten nicht auf einem Defekt bei der Initiierung, sondern eher im progressiven Verlauf der Fibrinbildung. Die Inaktivierung des Faktor-IX-Gens in der Maus liefert einen Hämophilie- B-Phänotyp, der für experimentelle Untersuchungen zur Therapie der Hämophilie geeignet ist (Lin et al. 1997; Kundu et al. 1998).

Neben der klinisch angewandten Substitutionstherapie mit rekombinantem Faktor IX (Lambert et al. 2007; Pipe 2008), die zu immunologischen Reaktionen unter Antikörperbildung führen kann, sind Studien zur Gentherapie im Gange, in denen verschiedene Vektorsysteme für die Expression von Faktor IX in unterschiedlichen Zielgeweben eingesetzt wurden (Armentano et al. 1990; Ponder 2006).

### 16.3.3 Regulation und Therapien

Aufgrund der Schlüsselstellung der intrinsischen Tenase in der Verstärkung der plasmatischen Gerinnung kommt auch ihrer Kontrolle durch natürliche Inhibitoren wie Antithrombin, Protein-Z-abhängigen Inhibitor oder Proteasenexin 2 eine entscheidende Bedeutung zu. Allerdings ist die physiologische Inaktivierung relativ ineffizient, da das Enzym zwischen der extrinsischen und der intrinsischen Tenase diffundieren kann und so als Bindeglied zwischen Initiierungs- und Propagierungsphase der Blutgerinnung wirkt. Spezifisch auf Faktor IXa abzielende, therapeutisch nutzbare Antikoagulation bei der Behandlung von venösen Thrombosen wird durch monoklonale Antikörper, inaktivierten Faktor IXa, direkte orale Inhibitoren oder RNA-Aptamere erzielt (Howard et al. 2007). Letztere sind selektive Proteaseinhibitoren, die hochaffin mit dem aktiven Zentrum des Zielenzyms reagieren und den Vorteil haben, mittels komplementärer RNA-Aptamere als »Antidot« aus der Verbindung mit dem Enzym gelöst zu werden (Becker et al. 2005).

## 16.4 Faktor X/Xa

### 16.4.1 Struktur, Aktivierung und Regulation

Faktor X (485 Aminosäuren; $M_r$: 59.000; 11 Gla-Reste) wird als zweikettiges Proenzym nach posttranslationalen Modifikationen (γ-Carboxylierung, Glykosylierungen, Hydroxylierung) von der Leber ins Blut sezerniert. Die Struktur und Organisation des Gens (auf Chromosom 13) wie auch des Proteins ist homolog zu den anderen Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsproteinen (Abb. 16.1), was für ihre evolutionäre Abstammung von einem gemeinsamen Vorläufermolekül spricht (Patthy 1985).

Die Aktivierung von Faktor X erfolgt durch Abspaltung eines 52-Aminosäuren-Aktivierungspeptids von der schweren Kette entweder durch die extrinsische oder die intrinsische Tenase auf der aktivierten Plättchenoberfläche. In der physiologischen Konstellation der beiden Tenasen (Abb. 16.1) wird eine optimale Faktor-X-Aktivierung erreicht, die 2–15×10$^{6}$-fach höher liegt, als wenn nur Faktor VIIa bzw. IXa (Enzym) und Faktor X (Substrat) zugegen wären. Ein weiterer selektiver Faktor-X-Aktivator liegt im Venom der *Vipera russelli* vor. In vitro kann diese Metalloproteinase im Rahmen von Plasmagerinnungstests für die Analyse bei Mangelerscheinungen von Faktor X, Faktor V, Prothrombin oder Fibrinogen herangezogen werden.

Im Prothrombinasekomplex übernimmt Faktor Xa die Rolle des wichtigsten physiologischen Aktivators des Prothrombins (Tab. 16.1). Faktor Xa kann aber auch die Faktor-VIIa-Bildung katalysieren, sodass beide Enzyme eine positive Feedback-Schleife in der Gerinnungsaktivierung bilden. Üblicherweise wird die Faktor-Xa-Aktivität durch die Bestimmung der Prothrombinzeit (PT) oder die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (APTT) in vitro quantifiziert.

Die physiologische Regulation des Faktor Xa erfolgt durch TFPI (in der extrinsischen Tenase), durch ZPI (nur gegen freien Faktor Xa; Corral et al. 2007) sowie in langsamer, progressiver Weise durch Antithrombin. Neben den natürlichen mit dem vaskulären Endothel assoziierten Heparansulfatproteoglykanen, die diese Faktor-Xa-Inaktivierung katalysieren, sind es vor allem verschiedene (auch synthetische) Heparine, die aufgrund ihrer Antikoagulanswirkung bei Thromboserisikopatienten bzw. zur Therapie von venösen Thrombosen eingesetzt werden (Harenberg u. Wehling 2008; ▶ Kap. 51.1).

### 16.4.2 Genmutationen, Mangelerscheinungen, Gen-Knockout

Die Struktur des Faktor-X-Gens ist durch einige Besonderheiten gekennzeichnet. Hierzu gehören das Fehlen einer üblicherweise in der Promotorregion lokalisierten TATA-Box oder die als negative Regulatoren wirkenden DNA-Abschnitte, die z. B. die Aktivierung des chromosomal benachbarten Faktor-VII-Gens beeinflussen, das deshalb in nur geringer Menge transkribiert wird. Hereditäre Faktor-X-Defekte sind selten (1:500.000–1.000.000) und verursachen unterschiedlich ausgeprägte, oft massive Blutungskomplikationen (Uprichard u. Perry 2002). Wie bei den meisten Gen-Knockout von Gerinnungsfaktoren in der Maus ist auch eine Inaktivierung des Faktor-X-Gens letal, entweder in utero oder kurz nach der Geburt (Dewerchin et al. 2000), was für die essenzielle Rolle des Proteins in der Embryonalentwicklung spricht.

### 16.4.3 Zelluläre Funktionen

Im Vergleich zur aktivierten Plättchenoberfläche besitzen Leukozyten alternative Wege, um mittels direkter Faktor-X-Bindung und -Aktivierung eine Thrombinbildung zu induzieren (Altieri 1993). Dabei fungiert das β2-Integrin Mac-1 als Faktor-X-Rezeptor, und zusammen mit zellgebundenem Faktor Va erfolgt eine Prothrombinaktivierung. Weiterhin erfolgt auf TF-exprimierenden Zellen eine Aktivierung von PAR-1 und PAR-2 in Nachbarschaft zur extrinsischen Tenase (VIIa-TF-Xa; Ruf et al. 2003). Damit vermittelt Faktor Xa zelluläres »signaling«, verbunden mit Konsequenzen für die Genexpression. Diese pro- oder antiinflammatorischen Prozesse spielen sich noch vor dem eigentlichen Gerinnungsgeschehen ab. Alternativ kann eine von TF unabhängige PAR-1-Aktivierung durch Faktor Xa ausgelöst werden, da Annexin II als weiterer Rezeptor des Gerinnungsproteins auf vaskulären Zellen identifiziert wurde (Bhattacharjee et al. 2008).

## 16.5 Faktor II/IIa (Prothrombin/Thrombin)

### 16.5.1 Prothrombin: Struktur, Aktivierung

Die Vorstufe des Thrombins, das einkettige Glykoprotein Prothrombin (579 Aminosäuren; $M_r$: 72.000; 10 Gla-Reste), wird wie alle Vitamin-K-abhängigen Faktoren in der Leber als Prä-Pro-Zymogen synthetisiert und nach posttranslationalen Modifizierungen ins Blut abgegeben. Im Prothrombin finden sich an der Stelle der 2 Wachstumsfaktor-(EGF-)Domänen in den Faktoren VII, IX und X 2 Kringledomänen, die homolog zu denselben Strukturmodulen im Plasminogen sind (Sottrup-Jensen et al. 1975; Abb. 16.1). In isolierter Form hat der Kringle-2 des Prothrombins potente antiangiogene Wirkung (Lee et al. 1998), ähnlich wie dies für die Kringledomänen des Plasminogens gezeigt wurde (O'Reilley et al. 1994). Die Gla-Domäne und die erste Kringledomäne bilden zusammen das sogenannte F1-Fragment ($M_r$: 23.000) des Prothrombins, die zweite Kringledomäne repräsentiert das F2-Fragment ($M_r$: 14.000).

Durch die Faktor-Xa-katalysierte proteolytische Spaltung zunächst an einer der 2 notwendigen Aktivierungsstellen (Positionen 274 und 324) im Prothrombin kann entweder Präthrombin 2 oder Meizothrombin gebildet werden. Aus beiden Intermediaten entsteht nach einer jeweils zweiten Spaltung das zweikettige α-Thrombin. Während sich das lösliche aktive α-Thrombin vom Aktivierungsort entfernen kann, bleibt das an der Gla-Domäne verankerte Prothrombinfragment 1–2 zurück.

Die freie Diffusion des Schlüsselenzyms der Blutgerinnung ist essenziell, da >90% des entstandenen α-Thrombins

für die antikoagulatorische Kontrolle seiner eigenen Bildung über die Thrombomodulin-Protein-C-Schleife verwandt wird. Neben körpereigenen sind viele exogene Prothrombinaktivatoren vor allem aus Schlangengiften bekannt (Kini 2005), die als Metalloproteinasen, Serinproteasen oder Kofaktoren wirken.

### 16.5.2 Prothrombin: Genmutationen, Gen-Knockout

Ein hereditärer Prothrombinmangel ist extrem selten (1:2.000.000), und nur wenige Mutationen (vor allem Missense-Mutationen) sind beschrieben (Mannucci et al. 2004), die unterschiedlich starke Blutungskomplikationen hervorrufen. Es gibt keine klare Korrelation zwischen dem Antigenspiegel bzw. Funktionsstatus des Prothrombins und dem Schweregrad und Typ der beobachteten Blutung. Eine Aprothrombinämie ist nicht dokumentiert, da diese wohl mit dem Leben nicht vereinbar ist. Dies wird auch durch den Gen-Knockout des Prothrombins in der Maus unterstützt (Sun et al. 1998), der durch embryonale wie neonatale Letalität gekennzeichnet ist, aber durch eine leberspezifische transgene Expression in der Maus wieder korrigiert werden kann (Sun et al. 2002). Da Mäuse mit einem kombinierten Knockout der PAR-4- und Fibrinogengene nur starke perinatale Blutungen, aber keine embryonalen Defekte zeigen (Coughlin 2005), ist eine funktionelle Rolle des α-Thrombins in der Embryonalentwicklung wahrscheinlich, unabhängig von Plättchenaktivierung und Fibrinbildung.

Ein Polymorphismus (G20210A) in der 3'-untranslatierten Region des Prothrombin-Gens ist mit einem erhöhten Prothrombinplasmaspiegel und Thromboserisiko assoziiert, wobei die Prävalenz des Allels 20210A in der kaukasischen Bevölkerung bei ca. 2% liegt (Poort et al. 1996). Die Mutation hat sich vor ca. 24.000 Jahren etabliert (Zivelin et al. 2006).

### 16.5.3 Thrombin: Struktur und Funktionen

Das aus 2 über eine Disulfidbrücke verbundene Proteinketten (A-Kette: 36 Aminosäuren; B-Kette: 259 Aminosäuren) bestehende α-Thrombin ist durch mehrere ladungsbedingte Oberflächenstrukturen gekennzeichnet, die spezifische Wechselwirkungen des multifunktionellen Enzyms mit Substraten, Kofaktoren, Rezeptoren und Inhibitoren erlauben (Abb. 16.2; Bode 2005).

Die positiven Ladungscluster (Anionenbindungsregionen AB-I und AB-II) sind für die Orientierung der Substrate und Inhibitoren notwendig, wobei z. B. Fibrinogen und Hirudin an die AB-I-Stelle und Heparin an die AB-II-Stelle bindet. Thrombin weist im Gegensatz zu den anderen Vitamin-K-abhängigen Proteasen ein breiteres Substratspektrum auf, was sich – bedingt durch die Kofaktoren/Rezeptoren – in den unterschiedlichen prothrombotischen sowie pro- und antikoagulatorischen Aktivitäten widerspiegelt (Tab. 16.2). Anhand der Kristallstruktur des Thrombins und durch Mutagenesestudien lassen sich die mechanistischen Beziehungen zwischen dem Enzym und seinen Substraten auf molekularer Basis erkennen und erlauben das Modellieren z. B. von neuen Inhibitoren für die antikoagulatorische Therapie (Huntington 2005; Lane et al. 2005).

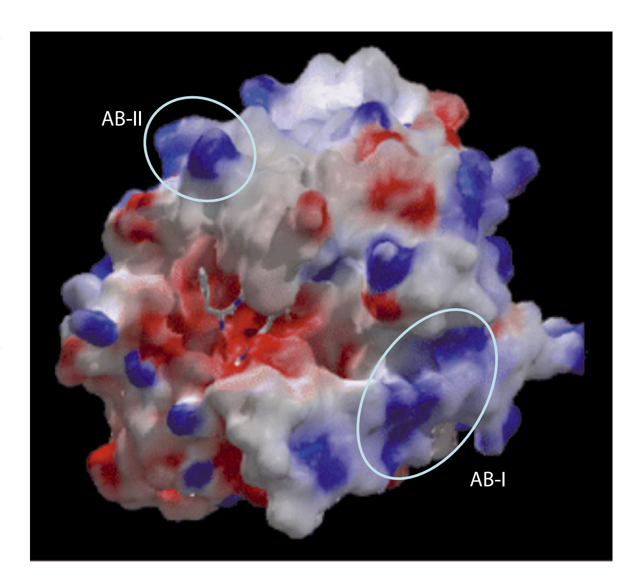



**Abb. 16.2.** Dreidimensionale Oberflächenstruktur des α-Thrombins, kovalent substituiert mit dem Proteaseinhibitor PPACK (D-Phenylalanyl-L-prolyl-L-arginin-chloromethylketon) im aktiven Zentrum des Enzyms. Die Interaktion mit Substraten (und Inhibitoren) erfolgt in der quer über das Protein ziehenden canyonartigen Vertiefung, in deren Mitte 1 negativ geladenes Ladungscluster (*Rot*) das aktive Zentrum umgibt. Die 2 für Proteininteraktionen wichtigen positiv geladenen Cluster (*Dunkelblau*) sind die Anionenbindungsregionen AB-I und AB-II

Neben Plättchenagonisten wie Adenosindiphosphat (ADP) oder Thromboxan ist Thrombin der stärkste Aktivator der Thrombozyten, wobei die Spaltung der PAR-1/PAR-3 zur Rezeptoraktivierung und nachfolgender Signaltransduktion über G-Protein-vermittelte Prozesse zur Plättchenadhäsion und -aggregation führt. Stimulierende Funktionen des Thrombins z. B. auf Endothel- und glatte Muskelzellen oder Nerven- und Tumorzellen, die mit Hyperpermeabilität, Proliferation, Zellmigration oder gesteigerter Genexpression in Beziehung stehen, werden ebenfalls durch PAR-1-abhängige Signalwege induziert (Coughlin 2005). Ein weiteres prothrombotisches Substrat ist das Glykoprotein V (GP V) aus dem GP-Ib-IX-V-Komplex (vWF-Rezeptor), dessen proteolytische Spaltung

**Tab. 16.2.** Natürliche Substrate und Kofaktoren des α-Thrombins

| Substrat | Prozess, Funktion |
|---|---|
| **Prothrombotisch** | |
| PAR-1 (Plättchen) | Plättchenaktivierung (Signaltransduktion), Adhäsion |
| Glykoprotein V (Plättchen) | Sensibilisierung von Plättchen |
| ADAMTS13 | Plättchenadhäsion an makromolekularen vWF |
| **Prokoagulatorisch** | |
| Faktoren V und VIII | Kofaktoren der Tenase und Prothrombinase |
| Faktor XI | Induzierung und Amplifizierung des intrinsischen Weges |
| Fibrinogen | Bildung und Polymerisation des Fibrins |
| Faktor XIII | Kovalente Quervernetzung des Fibrins |
| TAFI | Verzögerung der Fibrinolyse |
| **Antikoagulatorisch** | |
| Protein C | Inhibierung der Thrombinbildung (Proteolyse von Va und VIIIa) |
| **Zellulär** | |
| PAR-1, PAR-3 | Zellstimulierung, Proliferation |

*ADAMTS* »A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs«; *PAR* Protease-aktivierbarer Rezeptor; *TAFI* thrombinaktivierbarer Fibrinolyseinhibitor; *vWF* Von-Willebrand-Faktor

(durch GP-Ibα-fixiertes Thrombin) zur Bildung von hyperresponsiblen Plättchen beiträgt. Ebenso fördert die proteolytische Inaktivierung der vWF-prozessierenden Metalloproteinase ADAMTS13 (»a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs-13«) durch Thrombin die Plättchenadhäsion an makromolekularen vWF.

Zu den prokoagulatorischen Substraten des Thrombins zählen die Kofaktoren V und VIII sowie das Zymogen Faktor XI, welche nach initialer Aktivierung die weitere Produktion des Thrombins über den intrinsischen Weg amplifizieren. In ausreichender Menge vorhanden, katalysiert das Enzym nachfolgend die Fibrinogenspaltung (unter Bildung von Fibrin) und die Generierung der aktiven Transglutaminase Faktor XIIIa, die das Fibrin über Isopeptidbindungen kovalent verknüpft und stabilisiert. Schließlich aktiviert Thrombin (vor allem im Komplex mit Thrombomodulin) die Procarboxypeptidase TAFI (thrombinaktivierbarer Fibrinolyseinhibitor), welche durch die Entfernung von Lysinresten vom Fibringerinnsel die für die effektive Fibrinolyse notwendige Bindung von Plasminogen und Gewebeplasminogenaktivator (t-PA) an den Thrombus erschwert.

Eine einschneidende Änderung der Substratspezifität des Thrombins entsteht nach seiner Bindung über die AB-I und AB-II an den Endothelrezeptor Thrombomodulin (Esmon 2003): Die Wechselwirkungen der EGF- und Chondroitinsulfatdomänen des Thrombomodulins verhindern den Zugang aller prokoagulatorischen Substrate an diesen Komplex, sodass Thrombin seine prokoagulatorischen Eigenschaften verloren hat (Parkinson et al. 1992). Vielmehr aktiviert es im Komplex mit Thrombomodulin sehr effektiv das Protein C, eine Reaktion, die in großen Gefäßen durch die Anwesenheit des endothelialen Protein-C-Rezeptors (Esmon 2006) noch verstärkt wird. Das entstandene aktivierte Protein C (zusammen mit dem Kofaktor Protein S) unterbindet durch proteolytische Inaktivierung der Kofaktoren Va und VIIIa weitere Thrombinbildung im Gerinnungsgeschehen.

## 16.5.4 Thrombinregulation

Neben dieser antikoagulatorischen Feedback-Schleife (Produkthemmung) übernehmen zirkulierende Serinproteaseinhibitoren (Serpin) wie Antithrombin, Heparinkofaktor II, Proteasenexin-1 und das multifunktionelle $\alpha_2$-Makroglobulin letztlich die irreversible Inaktivierung des Thrombins unter Bildung von Enzym-Inhibitor-Komplexen (Rau et al. 2007). Eine mehr als 1.000-fache Beschleunigung der Reaktion wird durch Glykosaminoglykane wie Heparin oder Heparansulfat erreicht, indem das Enzym (über AB-II) und der Inhibitor in einem ternären Komplex fixiert und dadurch viel schneller zusammengeführt werden. Unter Spaltung des Serpins und enormen Konformationsumlagerungen wird Thrombin in seinem durch kovalente Bindung mit dem Inhibitor blockierten aktiven Zentrum (Serinrest) fixiert. Nachfolgende Interaktionen der inaktiven Thrombin-Serpin-Komplexe mit Vitronektin ermöglichen deren schnelle Klärung aus der Zirkulation (Preissner u. Seiffert 1998).

Der wirksamste und selektivste Inhibitor des Thrombins, der als Antikoagulans mehr als 100 Jahre in Gebrauch ist, ist das aus 65 Aminosäuren bestehende Hirudin aus dem Blutegel Hirudo medicinalis. Das Polypeptid weist (verstärkt durch Tyr-Sulfatierung) einen anionischen Ladungscluster im Carboxyterminus auf, der fest an die AB-I des Enzyms bindet. Homologe anionische Sequenzabschnitte finden sich im Fibrinogen, GP Ibα oder Vitronektin, alles Bindungsproteine von Thrombin. In bivalenter Weise besetzt der Aminoterminus des Hirudins zugleich das aktive Zentrum des Enzyms, was zu einer quasi irreversiblen Inhibierung führt. Die mittlerweile rekombinant erzeugten Hirudine werden u. a. für die Behandlung der he-

16

parininduzierten Thrombozytopenie eingesetzt (Greinacher u. Warkentin 2008). Weitere direkte, oral verfügbare Thrombininhibitoren sind als potente Antikoagulanzien in der Entwicklung (Bauer 2008), was auch für thrombinspezifische Inhibitoren z. B. aus blutsaugenden Insekten gilt (Fuentes-Prior et al. 1997).

## Literatur

Altieri DC (1993) Coagulation assembly on leukocytes in transmembrane signaling and cell adhesion. Blood 81: 569–579

Armentano D, Thompson AR, Darlington G et al. (1990) Expression of human factor IX in rabbit hepatocytes by retrovirus-mediated gene transfer: potential for gene therapy of hemophilia B. Proc Natl Acad Sci USA 87: 6141–6145

Baglia FA, Badellino KO, Li CQ et al. (2002) Factor XI binding to the platelet glycoprotein Ib-IX-V complex promotes factor XI activation by thrombin. J Biol Chem 277: 1662–1668

Bauer KA (2008) New anticoagulants.Curr Opin Hematol 15: 509–515

Becker RC, Rusconi C, Sullenger B (2005) Nucleic acid aptamers in therapeutic anticoagulation. Technology, development and clinical application. Thromb Haemost 93: 1014–1020

Bhattacharjee G, Ahamed J, Pawlinski R et al. (2008) Factor Xa binding to annexin 2 mediates signal transduction via protease-activated receptor 1. Circ Res 102: 457–464

Bode W (2005) The structure of thrombin, a chameleon-like proteinase. J Thromb Haemost 3: 2379–2388

Bowen DJ (2002) Haemophilia A and haemophilia B: molecular insights. Mol Pathol 55: 127–144

Chan JCY, Carmeliet P, Moons L et al. (1999) Factor VII deficiency rescues the intrauterine lethality in mice associated with a tissue factor pathway inhibitor deficit. J Clin Invest 103: 475–482

Cheung WF, van den Born J, Kóhn K et al. (1996) Identification of the endothelial cell binding site for factor IX. Proc Natl Acad Sci USA 93: 11068–11073

Choi-Miura NH, Takahashi K, Yoda M et al. (2001) Proteolytic activation and inactivation of the serine protease activity of plasma hyaluronan binding protein. Biol Pharm Bull 24: 448–452

Corral J, González-Conejero R, Hernández-Espinosa D, Vicente V (2007) Protein Z/Z-dependent protease inhibitor (PZ/ZPI) anticoagulant system and thrombosis. Br J Haematol 137: 99–108

Coughlin SR (2005) Protease-activated receptors in hemostasis, thrombosis and vascular biology. J Thromb Haemost 3: 1800–1814

Dahlbäck B, Villoutreix BO (2005) Regulation of blood coagulation by the protein C anticoagulant pathway: novel insights into structure-function relationships and molecular recognition. Arterioscler Thromb Vasc Biol 25: 1311–1320

Davie EW (1995) Biochemical and molecular aspects of the coagulation cascade. Thromb Haemost 74: 1–6

Dewerchin M, Liang Z, Moons L et al. (2000) Blood coagulation factor X deficiency causes partial embryonic lethality and fatal neonatal bleeding in mice. Thromb Haemost 83: 185–190

Engelmann B, Luther T, Müller I (2003) Intravascular tissue factor pathway--a model for rapid initiation of coagulation within the blood vessel. Thromb Haemost 89: 3–8

Esmon CT (2003) Inflammation and thrombosis. J Thromb Haemost 1: 1343–1348

Esmon CT (2006) The endothelial protein C receptor. Curr Opin Hematol 13: 382–385

Fuentes-Prior P, Noeske-Jungblut C, Donner P et al. (1997) Structure of the thrombin complex with triabin, a lipocalin-like exosite binding inhibitor derived from a triatomine bug. Proc Natl Acad Sci USA 94: 11845–11850

Greinacher A, Warkentin TE (2008) The direct thrombin inhibitor hirudin. Thromb Haemost 99: 819–829

Harenberg J, Wehling M (2008) Current and future prospects for anticoagulant therapy: inhibitors of factor Xa and factor IIa. Semin Thromb Hemost 34: 39–57

Hedner U, Ezban M (2008) Tissue factor and factor VIIa as therapeutic targets in disorders of hemostasis. Annu Rev Med 59: 29–41

Howard EL, Becker KC, Rusconi CP et al. (2007) Factor IXa inhibitors as novel anticoagulants. Arterioscler Thromb Vasc Biol 27: 722–727

Huang M, Rigby AC, Morelli X et al. (2003) Structural basis of membrane binding by Gla domains of vitamin K-dependent proteins. Nat Struct Biol 10: 751–756

Huang Z-F, Higuchi D, Lasky N et al. (1997) Tissue factor pathway inhibitor gene disruption produces intra-uterine lethality in mice. Blood 90: 944–951

Huntington JA (2005) Molecular recognition mechanisms of thrombin. J Thromb Haemost 3: 1861–1872

Jorgensen MJ, Cantor AB, Furie BC et al. (1987) Recognition site directing vitamin K-dependent γ-carboxylation resides on the propeptide of factor IX. Cell 48: 185–191

Kannemeier C, Feussner A, Stöhr HA et al. (2001) Factor VII and single-chain plasminogen activator activating protease: activation and autoactivation of the proenzyme. Eur J Biochem 268: 3789–3796

Kini RM (2005) The intriguing world of prothrombin activators from snake venom. Toxicon 45: 1133–1145

Kretz CA, Stafford AR, Fredenburgh JC et al. (2006) HD1, a thrombin-directed aptamer, binds exosite 1 on pro-thrombin with high affinity and inhibits its activation by prothrombinase. J Biol Chem 281: 37477–37485

Kundu RK, Sangiorgi F, Wu LY et al. (1998) Targeted inactivation of the coagulation factor IX gene causes hemophilia B in mice. Blood 92: 168–174

Lambert T, Recht M, Valentino LA et al. (2007) Reformulated BeneFix: efficacy and safety in previously treated patients with moderately severe to severe haemophilia B. Haemophilia 13: 233–243

Lane DA, Philippou H, Huntington JA (2005) Directing thrombin. Blood 106: 2605–2612

Lee TH, Rhim T, Kim SS (1998) Prothrombin kringle-2 domain has a growth inhibitory activity against basic fibroblast growth factor-stimulated capillary endothelial cells. J Biol Chem 273: 28805–28812

Lin HF, Maeda N, Smithies O et al. (1997) A coagulation factor IX-deficient mouse model for human hemophilia B. Blood 90: 3962–3966

Mannucci PM, Duga S, Peyvandi F (2004) Recessively inherited coagulation disorders. Blood 104: 1243–1252

Maritz-Olivier C, Stutzer C, Jongejan F et al. (2007) Tick anti-hemostatics: targets for future vaccines and therapeutics. Trends Parasitol 23: 397–407

Müller I, Klocke A, Alex M et al. (2003) Intravascular tissue factor initiates coagulation via circulating microvesicles and platelets. FASEB J 17: 476–478

Nakazawa F, Kannemeier C, Shibamiya A et al. (2005) Extracellular RNA is a natural cofactor for the (auto-)activation of Factor VII activating protease (FSAP). Biochem J 385: 831–838

Neels JG, Bovenschen N, van Zonneveld AJ, Lenting PJ (200) Interaction between factor VIII and LDL receptor-related protein. Modulation of coagulation? Trends Cardiovasc Med 10: 8–14

Oldenburg J, Watzka M, Rost S et al. (2007) VKORC1: molecular target of coumarins. J Thromb Haemost 5 (Suppl1): 1–6

O´Reilly MS, Holmgren L, Shing Y et al. (1994) Angiostatin: a novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma. Cell 79: 315–328

Parkinson JF, Koyama T, Bang NU et al. (1992) Thrombomodulin: an anticoagulant cell surface proteoglycan with physiologically relevant glycosaminoglycan moiety. Adv Exp Med Biol 313: 177–188
Patthy L (1985) Evolution of the proteases of blood coagulation and fibrinolysis by assembly from modules. Cell 41: 657–663
Perry DJ (2002) Factor VII deficiency. Br J Haematol 118: 689–700
Philippou H, Adami A, Amersey RA et al. (1997) A novel specific immunoassay for plasma two-chain factor VIIa: investigation of FVIIa levels in normal individuals and in patients with acute coronary syndromes. Blood 89: 767–775
Pipe SW (2008) Recombinant clotting factors. Thromb Haemost 99: 840–850
Piro O, Broze GJ Jr (2004) Role for the Kunitz-3 domain of tissue factor pathway inhibitor-alpha in cell surface binding. Circulation 110: 3567–3572
Poggio M, Tripodi A, Mariani G et al. (1991) Factor VII clotting assay: influence of different thrombo-plastins and factor VII-deficient plasmas. CISMEL Study Group. Thromb Haemost 65: 160–164
Ponder KP (2006) Gene therapy for hemophilia. Curr Opin Hematol 13: 301–307
Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH et al. (1996) A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. Blood 88: 3698–3703
Preissner KT, Seiffert D (1998) Role of vitronectin and its receptors in haemostasis and vascular remodeling. Thromb Res 89: 1–21
Rau JC, Beaulieu LM, Huntington JA, Church FC (2007) Serpins in thrombosis, hemostasis and fibrinolysis. J Thromb Haemost 1: 102–115
Römisch J (2002) Factor VII activating protease (FSAP): a novel protease in hemostasis. Biol Chem 383: 1119–1124
Rosen ED, Chan JC, Idusogie E et al. (1997) Mice lacking factor VII develop normally but suffer fatal perinatal bleeding. Nature 390: 290–294
Rost S, Fregin A, Ivaskevicius V et al. (2004) Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2. Nature 427: 537–541
Ruf W, Edgington TS (1994) Structural biology of tissue factor, the initiator of thrombogenesis in vivo. FASEB J 8: 385–390
Ruf W, Dorfleutner A, Riewald M (2003) Specificity of coagulation factor signaling. J Thromb Haemost 1: 1495–1503
Schmidt AE, Bajaj SP (2003) Structure-function relationships in factor IX and factor IXa. Trends Cardiovasc Med 13: 39–45
Sevinsky JR, Rao LVM, Ruf W (1996) Ligand-induced protease receptor translocation into caveolae: a mechanism for regulating cell surface proteolysis of the tissue factor-dependent coagulation pathway. J Cell Biol 133: 293–304
Sottrup-Jensen L, Zajdel M, Claeys H et al. (1975) Amino-acid sequence of activation cleavage site in plasminogen: homology with »pro« part of prothrombin. Proc Natl Acad Sci USA 72: 2577–2581
Spannagl M, Moessmer G (2006) Global tests of haemostasis. Haemostaseologie 26: 27–37
Sun WY, Witte DP, Degen JL et al. (1998) Prothrombin deficiency results in embryonic and neonatal lethality in mice. Proc Natl Acad Sci USA 95: 7597–7602
Sun WY, Coleman MJ, Witte DP et al. (2002) Rescue of prothrombin-deficiency by transgene expression in mice. Thromb Haemost 88: 984–991
Toomey JR, Kratzer KE, Lasky NM et al. (1996) Targeted disruption of the murine tissue factor gene results in embryonic lethality. Blood 88: 1583–1587
Uprichard J, Perry DJ (2002) Factor X deficiency. Blood Rev 16: 97–110
Weitz JI, Bates SM (2005) New anticoagulants. J Thromb Haemost 3: 1843–1853
Wu Q, Parry G (2007) Hepsin and prostate cancer. Front Biosci 12: 5052–5059
Zhang Y, Deng Y, Luther T et al. (1994) Tissue factor controls the balance of angiogenic and antiangiogenic properties of tumor cells in mice. J Clin Invest 94: 1320–1327
Zivelin A, Mor-Cohen R, Kovalsky V et al. (2006) Prothrombin 20210G>A is an ancestral prothrombotic mutation that occurred in whites approximately 24,000 years ago. Blood 107: 4666–4668

# 17 Vitamin K-Zyklus, VKORC1 und die molekularen Mechanismen der oralen Antikoagulation

*M. Watzka, J. Oldenburg*

## Einleitung

Vitamin K ist ein fettlösliches Vitamin, das vom menschlichen Organismus nicht synthetisiert werden kann. Das mit der Nahrung aufgenomme oder durch Darmbakterien synthetisierte Vitamin K wird im Jejunum resorbiert und zu einem geringen Teil in der Leber gespeichert. Vitamin K ist ein notwendiger Kofaktor bei der funktionellen Modifikation verschiedener Proteine, die in die Koagulation, Kalziumhomöostase und andere physiologische Prozesse eingebunden sind. Vitamin K ermöglicht die posttranslationale γ-Carboxylierung der Gerinnungsfaktoren II, VII, X, IX, Protein C und Protein S. Orale Antikoagulanzien vom Typ der Vitamin-K-Antagonisten blockieren die enzymatische Aktivität der Vitamin-K-Epoxid-Oxidoreduktase (VKORC1). Innerhalb des Vitamin-K-Zyklus ermöglicht die VKORC1 die Regeneration von Vitamin K.

## 17.1 Historie

Vitamin K wurde in den 1930er-Jahren von dem dänischen Biochemiker Henrik Dam und dessen Mitarbeitern während ihrer Arbeiten zur Entstehung von Skorbut entdeckt. Sie stellten fest, dass Hühner unter einer fett- und cholesterolfreien Ernährung große subkutane und intramuskuläre Blutungen entwickelten, welche im Gegensatz zu Skorbut nicht durch die Gabe von Vitamin C verhindert werden konnten. Auf ihrer Suche nach dem neuen Faktor konnten die Forscher 1935 ein antihämorrhagisches fettlösliches Vitamin anreichern und nannten es entsprechend der deutschen und skandinavischen Schreibweise für »Koagulation« Vitamin K. Zusammen mit Edward Doisy, welchem im Jahr 1939 die Strukturaufklärung des Vitamin K gelang, wurde Henrik Dam 1943 der Nobelpreis in Physiologie/Medizin verliehen.

Zusammen mit den Arbeiten Fritz Schønheyders, der inaktives Prothrombin als Ursache der durch Vitamin-K-Defizienz induzierten Blutungen identifizierte, war die Beobachtung, dass Rinder nach dem Verzehr von verdorbenem Klee an unerklärlichen Blutungen verendeten, von weitreichender Bedeutung. Das durch Schimmelpilze im Klee gebildete Dicumarol, welches für die Blutungen bei Rindern verantwortlich war, sollte zusammen mit dem strukturverwandten Warfarin als erstes orales Antikoagulans eine schnelle Verbreitung finden.

Trotz ihres intensiven weltweiten Gebrauchs lag der Wirkungsmechanismus dieser sogenannten Vitamin-K-Antagonisten lange Zeit vollkommen im Dunklen. Erst John T. Matschiner stellte 1974 die These einer durch Warfarin gehemmten zyklischen Regenerierung von Vitamin-K-Epoxid zu Vitamin K als Wirkprinzip dieser Medikamente auf, welches 4 Jahre später durch John W Suttie experimentell belegt werden konnte. Es dauerte weitere 26 Jahre, bis es gelang, die komplexen molekularen Zusammenhänge im Wechselspiel zwischen Vitamin K, den davon abhängigen Gerinnungsfaktoren und den Cumarinen durch Klonierung und Charakterisierung der Vitamin-K-Epoxid-Oxidoreduktase (VKORC1) zu entschlüsseln.

## 17.2 Chemische Struktur, Herkunft und Resorption des Vitamin K

Vitamin K ist der Sammelbegriff für mehrere chemisch verwandte Substanzen. Sie leiten sich alle vom natürlich nicht vorkommenden 2-Methyl-1,4-Naphthochinon (Menadion) ab und unterscheiden sich allein durch den Aufbau ihrer C3-Seitenkette. Vitamin $K_1$, welches als erstes der Vitamin-K-Gruppe aus Luzerne isoliert werden konnte und sowohl von Zyanobakterien als auch von Pflanzen gebildet wird, besitzt eine C20-Phytyl-Seitenkette und wird daher auch Phyllochinon genannt. Vitamin $K_2$ stammt aus Bakterien und bezeichnet eine Gruppe von Substanzen mit unterschiedlich langen, ungesättigten Terpen-Seitenketten (hauptsächlich C40, z. B. Menachinon).

Die Resorption von Vitamin K erfolgt im Jejunum zusammen mit Fetten durch Mizellenbildung und ist abhängig von Pankreaslipasen und Gallensäuren. Das durch Darmbakterien im terminalen Ileum und Kolon gebildete Vitamin $K_2$ trägt beim Menschen nur unwesentlich zur Vitamin-K-Versorgung bei, da die zur Resorption notwendigen Gallensäuren dort nur noch in vergleichsweise geringen Konzentrationen vorliegen. Der weitere Transport des Vitamin K erfolgt über Chylomikronen zur Leber, welche gleichzeitig den Hauptspeicherort für Vitamin K darstellt. Aufgrund der hohen Umsatzraten ist Vitamin K beim Menschen bereits nach 1–2 Wochen depletiert.

## 17.3 Der Vitamin-K-Zyklus

Auch wenn die Bedeutung von Vitamin K für die Koagulation schon Mitte der 1930er-Jahre erkannt wurde, war der Mechanismus seiner Wirkung lange Zeit unbekannt. Erst

**Abb. 17.1.** Der Vitamin-K-Zyklus. *VKORC1* Vitamin-K-Epoxid-Oxidoreduktase

1970 wurde die These eines zyklischen, von Warfarin und anderen Cumarinen inhibierbaren Recyclings von Vitamin-K-Epoxid zu Vitamin K aufgestellt und 1974 gelang es, die modifizierte Aminosäure γ-Carboxyglutamin als Vitamin-K-abhängige Komponente des aktiven Prothrombins zu identifizieren (Oldenburg et al. 2008). Da γ-Carboxyglutamin im Gegensatz zu Glutamin in der Lage ist $Ca^{2+}$-Ionen mit hoher Affinität zu binden, schloss man daraus, dass die posttranslationale γ-Carboxylierung von Glutaminresten entscheidend für die biologische Funktion der Vitamin K-abhängigen Faktoren ist. Auf Basis dieser Erkenntnisse konnten 2 Enzyme identifiziert werden, die entscheidend für die Funktion dieses Stoffwechselweges sind: die γ-Glutamyl-Carboxylase, welche Glutamat in Carboxyglutamat überführt, und die Vitamin-K-Epoxid-Oxidoreduktase, welche die dazu erforderlichen Reduktionsäquivalente durch Synthese von Vitamin K-Hydrochinon bereitstellt.

### 17.3.1 γ-Glutamylcarboxylase

Die γ-Glutamylcarboxylase (GGCX) ist ein integrales Membranprotein des rauen endoplasmatischen Retikulums und ist verantwortlich für die posttranslationale Modifikation der Gerinnungsfaktoren II, VII, IX, X, Protein C und S, des kalziumbindenden Osteocalcins und Matrix-Gla-Proteins sowie weiterer Vitamin-K-abhängiger Proteine

(Wu et al. 1991). Das 758 Aminosäuren lange und 87 kDa schwere Enzym formt 5 Transmembrandomänen und liegt, wie kürzlich mittels Röntgenstrukturanalyse an zweidimensionalen Kristallen belegt, als Monomer vor.

Der Mechanismus der γ-Carboxylierung konnte nach erfolgreicher Klonierung und Charakterisierung der GGCX näher untersucht werden. Es zeigte sich, dass bei Vitamin K-abhängigen Faktoren in einem ersten Schritt eine konservierte, etwa 18 Aminosäuren (AS) lange Peptidsequenz oberhalb einer Domäne, welche mehrere Glutaminreste enthält (Gla-Domäne), an die Propeptidbindungsstelle innerhalb der γ-Carboxylase bindet (AS495-513). Die Bindung des Propeptids löst durch allosterische Aktivierung den Transfer der unmodifizierten Gla-Domäne in das aktive Zentrum der GGCX aus (AS393-404). Gleichzeitig wird durch diese allosterische Konformationsänderung die Affinität der GGCX zu Vitamin K-Hydrochinon deutlich erhöht. Der Carboxylierungsprozess selbst beginnt mit der Abstraktion des Wasserstoffatoms des zu modifizierenden Glutaminrestes. Das enstehende Carbanion reagiert mit $CO_2$ zu γ-Carboxyglutamat (oder Gla).

Das als Elektronendonor dienende Vitamin-K-Hydrochinon wird im Laufe dieser Reaktion zu Vitamin-K-2,3-Epoxid oxidiert. Im Laufe des gesamten Prozesses bleibt das Propeptid gebunden, während die Gla-Domäne sich nach Abschluss der Reaktion so bewegt, dass der nächste, noch nicht modifizierte Glutaminrest in das aktive Zentrum transloziert. Wenn ein Großteil der Glutamate der Gla-Domäne carboxyliert ist, nimmt die Affinität des aktiven Zentrums zum Substrat deutlich ab und der modifizierte Faktor wird freigesetzt (Berkner 2000).

### 17.3.2 Vitamin-K-Epoxid-Oxidoreduktase

Gleich der γ-Carboxylase ist auch die Vitamin-K-Epoxid-Oxidoreduktase (VKORC1) ein Enzym des rauen endoplasmatischen Retikulums. Die VKORC1 ist verantwortlich für die Synthese von Vitamin-K-Hydrochinon, welches wiederum als Elektronendonor für den Carboxylierungsprozess der Vitamin-K-abhängigen Proteine durch die GGCX dient. Während dieses Prozesses wird das Vitamin-K-Hydrochinon zu Vitamin-K-Epoxid oxidiert, welches lange Zeit als Degradationsprodukt des Vitamin K angesehen wurde. Später, als unter bestimmten Bedingungen die prokoagulatorische Wirkung des Vitamin-K-Epoxids erkannt wurde und man die Akkumulation von Vitamin-K-Epoxid in warfarinisierten Ratten feststellte, wurde die Hypothese eines Recyclingprozesses aufgestellt, welcher mit der Reduktion von Vitamin-K-Chinon zu Vitamin-K-Hydrochinon beginnt, anschließend über die Oxidation während des Prozesses der γ-Carboxylierung zu Vitamin-K-Epoxid führt, welches dann wieder zu Vitamin-K-Chinon reduziert wird. Dieser Recyclingprozess vermag trotz der limitierten Verfügbarkeit von Vitamin K in höheren Tieren genügend Vitamin-K-Hydrochinon bereitzustellen, um eine ausreichende γ-Carboxylierung der Vitamin-K-abhängigen Proteine zu gewährleisten (Oldenburg et al. 2006). Dieser Prozess ist durch spezifische Inhibitoren aus der Substanzklasse der Cumarine blockierbar und wird in der Praxis bei der oralen Antikoagulation zur Therapie und Prophylaxe thromboembolischer Erkrankungen bzw. mit wesentlich höheren Dosen bei der Bekämpfung von Nagetieren genutzt (Abb. 17.1).

Trotz erheblicher Anstrengungen gelang es erst 2004 das VKORC1-Gen zu klonieren (Rost et al. 2004). Ausgehend von Kartierungsuntersuchungen bei 2 Familien mit einem erblichen Mangel aller Vitamin-K-abhängigen Faktoren konnte ein 5,126 bp langes Gen identifiziert werden, welches ein 163 AS langes und 18 kDa schweres Enzym mit 3 Transmembrandomänen kodiert und – in vitro exprimiert – eine deutliche, durch Warfarin inhibierbare VKORC1-Aktivität zeigte. Gleichzeitig konnte gezeigt werden, dass bei Patienten mit einer ausgeprägten Warfarinresistenz Mutationen im selben Gen für den klinischen Phänotyp verantwortlich sind.

Nach Klonierung der VKORC1 konnten weitere Arbeiten zur Struktur und Funktion dieses Enzyms in Angriff genommen werden. Es zeigte sich, dass verschiedene Regionen und Aminosäuren dieses durch die Evolution hinweg hochkonservierten Enzyms entscheidend für seine Funktion sind. Es handelt sich hierbei um 4 konservierte Cysteine (AS43, AS51, AS132 und AS135) und ein Serin (AS57), bei denen ein Austausch zu einem kompletten Funktionsverlust der VKORC1 führt. Entsprechend wurde für diese AS eine Funktion im aktiven Zentrum der VKORC1 postuliert. Das vermutete aktive Zentrum selbst beinhaltet ein CIVC-Redoxmotiv (Cystein-Isoleucin-Valin-Cystein; AS132-135), welches aus Thioredoxin-Oxidoreduktasen bekannt ist. Ein dem aktiven Zentrum benachbartes TYA-Motiv (Threonin-Tyrosin-Alanin; AS139-135) konnte in vitro und im Analogschluss durch eine Mutation bei einem cumarinresistenten Patienten in vivo als Warfarinbindungsstelle identifiziert werden. Zusammen mit dem Befund, dass eine weitere thioredoxinähnliche Oxidoreduktase, die zytoplasmatische Protein-Disulfid-Isomerase (PDI), den wahrscheinlichen Elektronendonor für die VKORC1 darstellt, kann davon ausgegangen werden, dass das in der dritten α-Helix der VKORC1 gelegene CIVC-Motiv die zentrale Komponente des aktiven Zentrums darstellt.

## 17.4 Physiologische Rolle der Vitamin-K-abhängigen Proteine

Vitamin K ist ein notwendiger Kofaktor bei der funktionellen Modifikation verschiedener Proteine, die in die Koagulation, Kalziumhomöostase und andere physiologische Prozesse eingebunden sind. All diesen Proteinen ist die posttranslationale Umformung von Glutaminsäureresten in Carboxyglutamate gemein. Ohne Vitamin K tritt die Carboxylierung nicht ein und die betreffenden Proteine werden unter Verlust ihrer Funktion als biologisch inaktive Faktoren sekretiert.

### 17.4.1 Koagulation

Die Gruppe der Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren besteht aus verschiedenen Proteinen mit 10–12 γ-Carboxyglutaminsäureresten (Gla) am Aminoterminus des reifen Proteins. Von diesen liegen die prokoagulatorischen Faktoren Prothrombin (Faktor II, FII), Faktor VII (FVII), Faktor IX (FIX) und Faktor X (FX) als zumeist inaktive Serinproteasenzymogene vor. Nach Sekretion in die Zirkulation binden je 2–3 der Gla-Reste an ein einzelnes $Ca^{2+}$-Ion und stabilisieren so die Tertiärstruktur des Proteins. Gleichzeitig wird dadurch eine Konformationsänderung initiiert, die zur Oberflächenexposition phospholipidbindender Strukturen führt. Diese Konformationsänderung ist die Voraussetzung dafür, dass im Falle einer Verletzung die Bindung dieser Faktoren an die von beschädigten Zellen oder Thrombozyten freigesetzten anionischen Phospholipidoberflächen über weitere oberflächenexponierte Gla-Reste und $Ca^{2+}$-Kationen koordiniert werden kann. Dieser Prozess ist unabdingbar für die Bildung des Tenase- und Prothrombinasekomplexes im Rahmen des Tissue Factor Pathways der Gerinnungskaskade.

In Abwesenheit von γ-Carboxyglutamaten oder auch nur bei ineffizienter Carboxylierung kommt es zu einem dramatischen Abfall der spezifischen Aktivität der betreffenden Gerinnungsfaktoren. Dies ist der Fall zum einen bei hereditären Erkrankungen (Mutationen in den Genen der VKORC1 und GGCX), zum anderen bei erworbenen pathophysiologischen Zuständen. Zu diesen zählen vor allem Vitamin-K-Defizienz durch Malabsorption oder Fehlernährung sowie Vergiftung mit Cumarinen. In den meisten dieser Fälle, insbesondere bei den erworbenen Formen, ist es möglich, den Blutungsphänotyp durch hohe Dosen Vitamin (oral oder i.v.) umzukehren. Obwohl auch 2 antikoagulatorische Faktoren, nämlich Protein C und S, als Vitamin-K-abhängige Proteine in gleicher Weise von einer Defizienz betroffen sind, überwiegt dennoch der globale antikoagulatorische Effekt des Vitamin K bei den genannten Erkrankungen.

### 17.4.2 Kalziumhomöostase

Wie bei den Gerinnungsfaktoren ist die Bindung von $Ca^{2+}$-Ionen unabdingbar für die Funktion von Osteocalcin und Matrix Gla Protein (MGP). Osteocalcin ist ein nichtkollagenes Protein der Knochenmatrix und spielt eine wichtige Rolle in der Stabilisierung und Mineralisierung derselben. Folgerichtig konnte eine hohe Konzentration von untercarboxyliertem Osteocalcin mit einer verringerten Knochendichte und einer erhöhten Rate von Knochenbrüchen assoziiert werden. Matrix-Gla-Protein hingegen dient als zentraler Inhibitor der Kalzifizierung der Weichgewebe (insbesondere Gefäße und Knorpel) und verhindert in diesen Geweben durch Bindung von $Ca^{2+}$ die Bildung von Hydroxylapatit.

## 17.5 Vom Vitamin-K-Zyklus beeinflusste klinische Phänotypen

### 17.5.1 VKCFD

Die Defizienz aller Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren ist eine seltene, autosomal rezessive Gerinnungsstörung die durch Mutationen im GGCX-Gen (VKCFD1) oder im VKORC1-Gen (VKCFD2) verursacht wird. Bisher wurden bei 10 Patienten Mutationen im GGCX-Gen nachgewiesen. Bei einigen Patienten konnte der Blutungsphänotyp durch die tägliche Gabe von 5 mg Vitamin K komplett revertiert werden, während andere Patienten selbst bei Gabe von 10 mg täglich nur unzureichend ansprachen. Bei 3 Patienten, welche aus Deutschland, dem Libanon und Italien stammten und bei denen keine Veränderung im GGCX-Gen festgestellt werden konnte, ist hingegen eine identische homozygote Mutation im VKORC1-Gen die Ursache für die beobachtete Verminderung aller Vitamin-K-abhängigen Faktoren (Rost et al. 2004; Marchetti et al. 2008). Im Gegensatz zu den bekannten Mutationen im GGCX-Gen ist der Phänotyp bei diesen Patienten durch die Gabe von vergleichsweise geringen Dosen Vitamin K revertierbar (5–10 mg wöchentlich). Dieser Unterschied resultiert aus den beiden verschiedenen Mechanismen, welche zur Verminderung der Gerinnungsaktivität bei VKCFD1 und VKCFD2 führen.

Beim GGCX-Gen geht man davon aus, das entweder die Propeptidbindungsstelle oder die Bindungsstelle für Vitamin-K-Hydrochinon durch die Mutationen beeinträchtigt wird. Während bei Mutationen der Propetidbindungsstelle die Affinität der nicht carboxylierten Vitamin-K-abhängigen Proteine zur GGCX sinkt und somit ein hoher Anteil nicht oder unvollständig carboxylierter und somit inaktiver Faktoren sekretiert wird, führen Mutati-

onen, welche die Vitamin-K-Hydrochinon-Bindungsstelle beeinträchtigen, zu einer generellen Verminderung der GGCX-Aktivität. Abhängig von der Art und Schwere der Beeinträchtigung der Funktionalität der GGCX kann der Phänotyp partiell oder auch komplett durch Gaben hoher Dosen Vitamin K aufgehoben werden.

Im Fall der bisher einzigen eine VKCFD2 verursachenden Mutation im VKORC1-Gen ist der Pathomechanismus ein anderer. Bedingt durch diese Mutation und die nachfolgende Inaktivität der VKORC1 steht kein Vitamin-K-Hydrochinon für eine ausreichendende γ-Carboxylierung mehr zur Verfügung. Auch hier kann der Phänotyp durch Gabe von Vitamin K aufgehoben werden, allerdings ist der Mechanismus ein anderer als der bei der VKCFD1 beschriebene. Die Reduktion von Vitamin K zu Vitamin-K-Hydrochinon durch die VKORC1 ist gekennzeichnet durch die hohe Affinität des Substrats zum Enzym und wird somit auch bei relativ niedrigen Konzentrationen von Vitamin K effizient ausgeführt. Dadurch, dass auch Vitamin-K-Epoxid als Substrat dient, ist die VKORC1 in der Lage, den gesamten Vitamin-K-Zyklus zu bewerkstelligen.

Neben diesem Zyklus existiert in der Leber noch ein weiterer Vitamin-K-Stoffwechselweg. Er wird durch das mikrosomale Enzym NAD(P)H-Chinon-Dehydrogenase 1 (NQO1, DT-Diaphorase) ausgeführt, dessen Hauptaufgabe die reduktive Detoxifikation verschiedener Chinone ist, welche beim Abbau von phenolischen Metaboliten anfallen. Allerdings wird auch Vitamin K als Substrat akzeptiert, wenn es in unphysiologisch hohen Konzentrationen vorliegt. Da die NAD(P)H-Chinon-Dehydrogenase 1 im Gegensatz zur VKORC1 kein Vitamin-K-Epoxid reduzieren kann, kommt es hier zu einer Akkumulation von Vitamin-K-Epoxid, wie man es bei einer Vitamin-K-Supplementierung von Patienten, welche an einer VKCFD2 leiden, beobachten kann. Dadurch, dass die NAD(P)H-Chinon-Dehydrogenase 1 durch Cumarine in geringerem Maße gehemmt wird als die VKORC1, wird auch der Effekt von Vitamin K als Antidot bei Cumarinintoxikation auf diesen Stoffwechselweg zurückgeführt (Bypass-Mechanismus) (Abb. 17.1).

17

### 17.5.2 Pseudoxanthoma-elasticum-ähnliche Phänotypen

Vor Kurzem wurde ein weiterer klinischer Phänotyp mit Mutationen im GGCX-Gen in Verbindung gebracht (Vanakker et al. 2007). Es handelt sich hierbei um Pseudoxanthoma-elasticum-ähnliche Phänotypen. Generell handelt es sich beim Pseudoxanthoma elasticum (PXE) um eine autosomal rezessive, in manchen Fällen auch pseudodominante Erkrankung, die Haut, Augen und das arterielle System betrifft. Charakteristisch ist die faltige, relativ inelastische Haut, welche mit einer Hyperkeratinose in eng umrissenen Arealen einhergeht. Gleichzeitig wird eine Kalzifizierung dieser Plaques beobachtet, was auch ursächlich für die kardiovaskulären und ophtalmologischen Komplikationen ist.

In den meisten Fällen von PXE konnten Mutationen im ABCC6-Gen für den Defekt verantwortlich gemacht werden. Einige Patienten ohne Mutation in diesem Gen zeigten allerdings eine auffällige, wenn auch nicht schwere Verminderung aller Vitamin-K-abhängigen Faktoren. Bei 6 Patienten konnten sowohl homozygote, compound-heterozygote, aber auch heterozygote Mutationen im GGCX-Gen nachgewiesen werden.

Die Ursache des beobachteten PXE-Phänotyps scheint bei allen Patienten untercarboxyliertes und somit inaktives Matrix-Gla-Protein zu sein. Interessanterweise wurden ähnliche Veränderungen auch bei einigen (aber nicht allen) Patienten mit schwerer VKCFD1 festgestellt. Bedingt durch das sehr heterogene Krankheitsbild muss daher davon ausgegangen werden, dass PXE neben den Mutationen im GGCX- und ABCC6-Gen durch weitere hereditäre Faktoren moduliert wird.

### 17.5.3 Erworbene Formen einer Vitamin-K-Defizienz

In einigen Fällen kann der VKCFD-Phänotyp durch erworbene, nicht genetisch determinierte Faktoren erklärt werden. An erster Stelle stehen hier Phasen länger anhaltender Fehlernährung ohne oder mit nur geringem nutritiven Eintrag von Vitamin K. Dies führt zu einer verminderten Aktivität der Vitamin-K-abhängigen Faktoren, allerdings in den meisten Fällen ohne schwere klinische Konsequenzen. Allerdings ist der Effekt einer Fehlernährung oder einer Malabsorption bedingt durch länger anhaltende Antibiose oder durch ein partiell entferntes Ileum deutlich schwerer.

Tritt ein schwerer Vitamin-K-Mangel während einer Schwangerschaft auf, kann in seltenen Fällen beim Feten ein Phänotyp beobachtet werden, welcher einer warfarininduzierten Embryopathie gleicht. In beiden Fällen ist der Mechanismus derselbe. Bedingt durch die verringerte Carboxylierung von Osteocalcin und MGP werden zum einen die knorpeligen Strukturen des Embryos kalzifiziert und zum anderen sind die Knochen unzureichend mineralisiert. Dies führt zu einem dem Keutel-Syndrom ähnlichen Phänotyp (dort bedingt durch Mutationen im MGP), welcher auch durch abnormale Kalzifizierung der Knorpel, durch eine Mittelgesichts- und vor allem Nasenhypoplasie charakterisiert ist.

## 17.6 Cumarinbasierte Antikoagulation

Cumarinderivate (z. B. Marcumar, Warfarin oder Acenocoumarol) werden seit 1950 weltweit als orale Antikoagulanzien zur Prophylaxe und Therapie venöser und arterieller thromboembolischer Erkrankungen eingesetzt und gehören zu den am häufigsten verschriebenen Medikamenten. In den westlichen Ländern nehmen ca. 1–2% der erwachsenen Bevölkerung orale Antikoagulanzien ein. Schätzungen zufolge werden in den USA ca. 4 Mio. und in Deutschland rund 800.000–900.000 Patienten mit Vitamin-K-Antagonisten behandelt. Mit wachsender Lebenserwartung und somit zunehmender Inzidenz des Vorhofflimmerns als Hauptindikation für die Cumarintherapie wird der Anteil oral antikoagulierter Patienten zukünftig weiter ansteigen.

Die kürzlich identifizierten VKORC1-Haplotypen sind für den Großteil der interindividuellen (und interethnischen) Dosisvariationen einer oralen Antikoagulation mit Cumarinderivaten verantwortlich (Geisen et al. 2005; Rieder et al. 2005). VKORC1 recycelt das bei der γ-Carboxylierung kontinuierlich entstehende Vitamin-K-Epoxid zu Vitamin-K-Hydrochinon. Cumarine inhibieren dieses Enzym. Der Einfluss der VKORC1-Varianten auf die Cumarindosis ist signifikant. So führt die verbreitete Haplotypkonstellation VKORC1*2 zu einer ca. 50%igen Verminderung der VKORC1-mRNA-Expression, verglichen mit der Transkriptionsrate der Wildtypvariante. Darüber hinaus konnten einige seltene Aminosäuremutationen in der VKORC1-translatierten Primärsequenz identifiziert werden, die zu einer Cumarinresistenz führen.

Die Kombination dieser neu entdeckten pharmakogenetischen Marker (einschließlich der CYP2C9-Genotypen, die vor allem für die Dosisvariationen mit Warfarin verantwortlich sind) mit bisherigen Umwelteinflüssen und patientenspezifischen Merkmalen (wie Alter, Geschlecht, Komedikation, Leberfunktion, nutritiver Vitamin-K-Status) erlaubt es, bisherige Dosisalgorithmen zu optimieren.

### 17.6.1 Pharmakodynamik und Pharmakokinetik der cumarinbasierten oralen Antikoagulanzien

Die Klasse der Cumarine umfasst heute im Wesentlichen 3 zugelassene Wirkstoffe: Warfarin, Phenprocoumon und Acenocoumarol. Ihre Wirkung als Vitamin-K-Antagonisten entfalten sie, indem sie direkt an die Vitamin-K-Epoxid-Reduktase (VKORC1) binden und so die Reduktion von Vitamin-K-Epoxid zu Vitamin-K-Chinon und weiter zu Vitamin-K-Hydrochinon inhibieren.

#### Pharmakokinetik der Cumarine

Bei allen therapeutisch angewendeten Cumarinen handelt es sich um 3‘-substituierte Derivate des 4-Hydroxy-2H-1-benzopyran-2-ons. Ihnen gemeinsam ist das Cumaringrundgerüst, ihre Lipophilie, die gute Resorbierbarkeit, eine Bioverfügbarkeit von mehr als 95% sowie die hohe Plasmaeiweißbindung. Da die Cumarine nicht stereoselektiv synthetisiert werden, liegen sie aufgrund des Stereozentrums in der Seitenkette als razemisches Gemisch der jeweiligen S- und R-Enantiomere vor.

Wie bei vielen anderen Substanzen haben die jeweiligen Enantiomere der Cumarine eine ungleiche Wirkung und werden unterschiedlich verstoffwechselt. So weist das S-Enantiomer gegenüber dem R-Enantiomer eine bis zu 5-fach höhere antikoagulatorische Wirksamkeit auf. Umgekehrt verhält sich vor allem bei Warfarin und Acenocoumarol der enantiomerspezifische Metabolismus. Während die S-Enantiomere hauptsächlich über das hepatische CYP2C9 abgebaut werden, erfolgt der Abbau für das R-Enantiomer durch eine Vielzahl von Enzymen der Zytochrom-P450-Familie, wie z. B. CYP1A2, CYP2C8, CYP3A4 oder CYP3A5.

Durch die verschiedene Struktur von Warfarin und Acenocoumarol sowie die voneinander abweichende Effektivität der metabolischen Abbauwege sind die einzelnen Enantiomere durch unterschiedliche Halbwertszeiten charakterisiert. So wurde für S-Warfarin eine Halbwertszeit von 24–3 h, für R-Warfarin hingegen von 35–58 h festgestellt. S- und R- Acenocoumarol besitzen mit 1,8 bzw. 6,6 h deutlich kürzere Halbwertszeiten. Dieser erhebliche Unterschied in den Halbwertszeiten der Enantiomere führt dazu, dass das pharmakokinetische Profil von razemischem Warfarin durch einen Peak des antikoagulatorisch stärkeren S-Enantiomers mit einem nachfolgend längeren Plateau des weniger wirksamen R-Warfarins gekennzeichnet ist. Bei Acenocoumarol ist dieser Effekt durch die Halbwertszeit von 1,8 h für das S-Enantiomer noch ausgeprägter, sodass hier schon nach kurzer Zeit die Hauptlast der Antikoagulation auf dem schwächer wirksamen R-Acenocoumarol liegt.

Da sowohl S-Warfarin als auch S-Acenocoumarol hauptsächlich über den CYP2C9-Stoffwechselweg abgebaut werden, führen Mutationen in diesem Enzym zu schwerwiegenden Änderungen des pharmakokinetischen Profils. Von den zahlreichen Varianten (s. a. Homepage des Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee: www.cypalleles.ki.se) spielen die bei Kaukasiern häufigen Defektallele CYP2C9*2 (Arg144Cys; Restaktivität 50–70%; 15% Prävalenz) und CYP2C9*3 (Ile359Leu; 5–10% Restaktivität 7% Prävalenz) eine größere Rolle. Bei Patienten aus Afrika und Asien sind diese Allele deutlich seltener anzutreffen, jedoch verursachen Defektallele wie z. B. CYP2C9*11 einen ähnlichen Effekt.

Unter Berücksichtigung der relativen Prävalenz der einzelnen Defektallele ist mit etwa 3% aller Patienten kaukasischen Ursprungs zu rechnen, die diese Allele homozygot oder kombiniert heterozygot tragen und bei denen durch den eingeschränkten enzymatischen Abbau von S-Warfarin und S-Acenocoumarol die höher potenten S-Enantiomere schnell zu supratherapeutischen Konzentrationen akkumulieren. Eine Überantikoagulation mit nachfolgendem erhöhtem Blutungsrisiko ist dann die Folge.

Phenprocoumon nimmt hier eine Sonderstellung ein, da es zu einem Großteil unmetabolisiert über die Niere ausgeschieden wird und der Metabolismus durch Hydroxylierung für beiden Enantiomere von denselben Enzymen ausgeführt wird. Im Gegensatz zu Warfarin und insbesondere Acenocoumarol sind die Halbwertszeiten von S- und R-Phenprocoumon mit 110–130 bzw. 110–125 h verhältnismäßig lang und annähernd gleich. Da beim Metabolismus von Phenprocoumon CYP2C9 nur eine begrenzte Rolle spielt, sind die oben beschriebenen Defektallele hier von untergeordneter Bedeutung.

#### Pharmakodynamik der Cumarine

Auch wenn durch die Defektallele des CYP2C9 und individuelle Marker wie Alter, Geschlecht und Gewicht ein Teil der Cumarindosis im Rahmen der oralen Antikoagulation erklärt werden konnte, blieb der Großteil der interindividuellen Dosisvariationen lange Zeit einem rationalen Ansatz verschlossen. Dies änderte sich mit der Klonierung der VKORC1 (Rost et al. 2004). Als molekulares Target der Cumarine wurde sie schnell das Ziel von Genotyp-Phänotyp-Untersuchungen. Zuerst war es ein einzelner Polymorphismus, welcher mit einer verringerten Cumarindosis assoziiert werden konnte; später stellte sich heraus, dass dieser Polymorphismus Teil eines komplexen Haplotyps ist (Geisen et al. 2005; Rieder et al. 2005).

In diesem Haplotyp konnte ein weiterer Polymorphismus der VKORC1 als Ursache für die verringerte Cumarindosis identifiziert werden. Dieser funktionelle Polymorphismus (VKORC1 c.-1639G>A, rs9923231) ändert im Promotor der VKORC1 eine einzelne Transkriptionsfaktorbindungsstelle dergestalt, dass nachfolgend im Vergleich zur Wildtypsequenz nur noch die Hälfte der mRNA-Menge produziert wird (Yuan et al. 2005). Dies wiederum hat zur Folge, dass sowohl die Menge an translatiertem VKORC1-Protein als auch die VKORC1-Aktivität um 30–50 % vermindert sind. Da Cumarine direkt 1:1 an das TYA-Warfarin-Bindungsmotiv binden, kann über den Haplotyp VKORC1*2 ein Großteil der beobachteten interindividuellen Dosisvariationen erklärt werden.

Durch den molekularen Mechanismus der Cumarinhemmung bedingt, ist der Dosiseffekt des Haplotyps VKORC1*2 nahezu linear. Verglichen mit dem homozygoten Wildtyp haben Patienten mit heterozygotem VKORC1*2-Haplotyp einen um ca. 20–25% verringerten Cumarinbedarf, während eine homozygote VKORC1*2-Haplotypen-Konstellation zu einer durchschnittlich um 50% verringerten Dosis führt. Auf die gleiche Weise erklärt dieser Haplotyp auch die interethnischen Differenzen in der Cumarindosierung. Während der dosisreduzierende Haplotyp VKORC1*2 bei Patientengruppen asiatischen Ursprungs hoch prävalent ist (bis zu 95%), ist er selten bei Afrikanern (15%) und relativ häufig bei Europäern (40%). Infolgedessen ist die mittlere Cumarindosis bei Asiaten niedrig, bei Afrikanern hoch und bei Europäern durchschnittlich.

Ein weiterer, vom Metabolismus und der direkten Bindung von Cumarinen unabhängiger Faktor ist Protein C. Aufgrund seiner antikoagulatorischen Wirkung scheinen genetisch bedingte Unterschiede in der Aktivität des Protein C mit einer erhöhten Warfarindosis einherzugehen. Dieser Effekt kann bis zu 10% der Variation der Cumarindosis ausmachen. Weitere 2–4% der Variabilität sind durch Varianten der γ-Carboxylase bedingt, welche zu einer erhöhten GGCX-Aktivität führen.

Neben diesen Haupteinflussfaktoren konnten in letzter Zeit noch einige weitere genetische Determinanten für einen höheren bzw. niedrigeren Cumarinbedarf charakterisiert werden. Zu diesen gehört der apoE-4-Genotyp, welcher mit einer erhöhten Cumarindosis assoziiert ist. Dies wird auf eine verstärkte hepatische Chylomikronenresorption und dadurch erhöhte Vitamin-K-Konzentration in der Leber zurückgeführt. Ebenso werden Polymorphismen in der mikrosomalen Epoxidhydrolase (EPHX1), im Orosomucoid-1-Gen (ORM1) sowie im Calumenin-Gen (CALU) mit einem gesteigerten Cumarinbedarf assoziiert. Allerdings sind die durch Varianten dieser Gene verursachten Dosiseffekte gering und liegen addiert im niedrigen Prozentbereich (Oldenburg et al. 2007a, 2007b).

### 17.6.2 Cumarinsensitivität

Cumarinsensitivität beschreibt einen klinischen Phänotyp, der sich durch eine gegenüber dem Durchschnitt deutlich reduzierte Dosis auszeichnet. Er wird im Allgemeinen durch einen homozygoten VKORC1*2-Haplotypen hervorgerufen und tritt in kaukasischen Kollektiven mit einer Frequenz von 16%, in afrikanischen mit einer Frequenz von 2,5% auf. In asiatischen Populationen hingegen stellt dieser Phänotyp durch die hohe Prävalenz des VKORC1*2 von bis zu 95% den Normalzustand dar, sodass diese Gruppe durch eine allgemein niedrige Cumarindosis charakterisiert ist.

Unabhängig von den Varianten der VKORC1 sind die Defektallele des CYP2C9, insbesondere CYP2C9*3, durch den eingeschränkten Metabolismus von Warfarin und Acenocoumarol verantwortlich für niedrige bis sehr niedrige

Cumarindosen sowie für ein erhöhtes Risiko für Überantikoagulation und Blutungszwischenfälle. Bei homozygoten Kombinationen des VKORC1*2- und CYP2C9*3-Genotyps wurden übereinstimmend Warfarindosen von 1,0–0,5 mg täglich und weniger beobachtet.

Die Kombination von Niedrigdosisallelen in VKORC1 und CYP2C9 wurde kürzlich als starker Indikator für ein hohes Risiko einer schweren Überantikoagulation identifiziert. Infolgedessen wird angenommen, dass zukünftig eine VKORC1/CYP2C9-Genotypisierung Patienten mit einer Kombination von Risikoallelen vor Beginn einer oralen Antikoagulation identifizieren und durch eine entsprechende Dosisanpassung das Risiko einer Überantikoagulation minimieren könnte (Flockhart et al. 2008).

### 17.6.3 Cumarinresistenz

Der klinische Phänotyp der Cumarinresistenz kann in 2 Gruppen mit unterschiedlichen genetischen Ursachen unterteilt werde. Die erste Gruppe von Patienten ist partiell resistent und zeichnet sich durch das homozygote Vorliegen von *Nicht*-VKORC1*2- und wt-CYP2C9-Allelen aus. Eine ausreichende und stabile orale Antikoagulation lässt sich bei diesen Patienten mit erhöhten Cumarindosen erreichen, welche im Rahmen der 1,5- bis 2-fachen durchschnittlichen Dosis liegen. Die Kombination dieser Wildtypallele macht in kaukasischen Populationen etwa 20% der Bevölkerung aus und entspricht sowohl im Umfang als auch der Höhe der Dosierung dem oberen Viertel der üblichen Spanne der Cumarindosierung.

Die zweite Gruppe von Patienten zeichnet sich durch deutlich erhöhte Cumarindosen aus, auch konnte in Einzelfällen eine totale Resistenz beobachtet werden. Bedingt wird dieser Phänotyp durch vornehmlich seltene, heterozygote Mutationen im VKORC1-Gen. Bisher wurden 15 Patienten mit 7 verschiedenen Mutationen beschrieben, welche mit einer Ausnahme Sequenzvariationen ohne weitere Verbreitung sind. Die Mutation Asp36Tyr hingegen konnte in ethnischen jüdischen Gruppen äthiopischer und osteuropäischer Herkunft mit einer Frequenz von 15% bzw. 4% in der Normalbevölkerung beobachtet werden. Sie ist mit dem vornehmlich in Afrika anzutreffenden ursprünglichen Wildtypallel VKORC1*1 vergesellschaftet und spielt in anderen Populationen bisher keine Rolle.

Die Mutationen in der VKORC1 sind hauptsächlich in 2 Regionen zu beobachten. Bei der ersten handelt es sich um die dritte transmembranäre α-Helix, welche sowohl das aktive Zentrum mit dem CIVK-Motiv (AS132-135), als auch das TYA-(138-140-)Warfarin-Bindungsmotiv enthält. Die zweite Region umfasst eine große extramembranäre Schleife, welche zwischen der ersten und zweiten α-Helix liegt. Obwohl diese Schleife weit entfernt vom aktiven Zentrum und dem Warfarin-Bindungsmotiv zu liegen scheint, konnten mehrere hoch konservierte Aminosäuren als essenziell für die VKORC1-Aktivität und Sequenzänderungen als ursächlich für eine Cumarinresistenz charakterisiert werden. Dies mag an einer möglichen direkten oder indirekten Interaktion dieser Schleife mit der dritten transmembranären Domäne liegen; exakte mechanistische Aussagen können aber erst getroffen werden, wenn die räumliche Struktur des Enzyms geklärt ist.

### 17.6.4 Neue Dosisalgorithmen

In den letzten Jahren wurden bereits einige Studien einer genotypadaptierten Cumarindosierung durchgeführt und neue Dosisalgorithmen entwickelt, die neben den bekannten Faktoren wie Alter, Geschlecht und Körpergewicht auch den VKORC1- und CYP2C9-Genotypen implementieren. In allen Studien wird übereinstimmend den VKORC1-Genotypen der größte prädiktive Einfluss beigemessen, während die Bedeutung der CYP2C9-Genotypen eine untergeordnete Rolle spielt. Da gezeigt werden konnte, dass bestimmte VKORC1- und CYP2C9-Haplotypkombinationen mit einem erhöhten Blutungsrisiko einhergehen, verspricht die genotypabhängige Dosierung als bedarfsgerechte, individualisierte Adaptation eine signifikante Reduktion von Komplikationen, besonders in der Initialphase der Cumarintherapie.

Diese Erwartung wird auch dadurch ausgedrückt, dass die U.S. Food and Drug Administration sich im August 2007 entschloss, die Produktinformation für Warfarin dahingehend zu ändern, dass Polymorphismen in CYP2C9 und VKORC1 die Wirkung oraler Antikoagulanzien erheblich beeinflussen können (U.S. Food and Drug Administration 2007). Dies ist zwar noch nicht die Anweisung zu einer verpflichtenden Testung des Genotyps vor Medikamentierung, allerdings kann damit gerechnet werden, dass diese bei weiteren positiven Studien in Zukunft als Routineanalyse vorgeschrieben werden wird.

Eine Neueinstellung auf Cumarine erfolgt häufig unter stationären Bedingungen, die ambulant meist durch den Hausarzt weitergeführt wird. Die (in der Regel mit Heparinen überlappende) Initialphase ist jedoch besonders vulnerabel in Bezug auf eine überschießende Cumarinwirkung, was ein engmaschiges Monitoring erfordert. Für eine bessere Einschätzung des prospektiven Cumarinbedarfes in der Eindosierungsphase bis zur stabilen Antikoagulation wäre ein Screening wünschenswert. Zudem könnten Patienten mit einem erhöhten Blutungsrisiko identifiziert werden, was die Sicherheit der Therapie mit oralen Antikoagulanzien erhöhen könnte. Jedoch sind weitere randomisierte klinische Studien notwendig, um den Nutzen der noch nicht ausreichend validierten pharmakogenetisch adap-

tierten Dosisalgorithmen gegenüber dem Standardprozedere zu belegen.

Eine weitere Limitation der gegenwärtigen Dosisalgorithmen besteht in der praktischen Anwendung, die einfach und schnell verfügbar sein sollte. Mittels Desktopcomputern und mobiler Geräte bestünde jedoch die Möglichkeit eines raschen Zugriffs auf entsprechende Rechenhilfen. Ein solch webbasierter Dosisrechner findet sich z. B. unter http://www.warfarindosing.org. Derartige Plattformen bieten zudem die Möglichkeit, mittels Eingabe der ermittelten tatsächlichen Cumarindosis die Entwicklung der jeweiligen Dosismodelle voranzutreiben (Tab. 17.1).

### 17.6.5 Paradigmenwechsel in der oralen Antikoagulation:neue Einblicke der gleichzeitigen Gabe von Vitamin K und Cumarinen

Ein weiteres Prinzip einer risikoreduzierten oralen Antikoagulation ist die Ausschaltung variabler Einflüsse. Ein wesentlicher Faktor dabei ist die Aufnahme von Vitamin K mit der Nahrung. In den westlichen Industriestaaten besteht durch die Lebens- und Ernährungsgewohnheiten eine latente Vitamin-K-Unterversorgung, die unter normalen Umständen nicht zum Tragen kommt. Unter oraler Antikoagulation zeigt sich jedoch ein deutlicher Einfluss der Ernährungsweise auf die Stabilität der INR (»internataional normalized ratio«). Es konnte gezeigt werden, dass warfarinisierte Patienten mit instabilem INR-Verlauf weniger Vitamin K mit der Nahrung aufnahmen (unterhalb der WHO-Empfehlung) als Patienten mit stabilem INR.

Diese Beobachtung führte zu der Hypothese, dass eine stabile Antikoagulation nur bei einer ausreichenden täglichen Vitamin-K-Versorgung gewährleistet ist. Diese könnte durch eine Supplementierung im Bereich der von der WHO empfohlenen Mindestaufnahme geschehen. Die damit durchgeführte gleichzeitige Gabe eines Agonisten und Antagonisten mag zunächst widersprüchlich erscheinen, bei näherer Betrachtung verspricht dieses neue Prinzip jedoch eine rationale Strategie für die orale Antikoagulation zu werden.

Die schwierige Steuerbarkeit der Cumarintherapie hat mehrere Ursachen:

- die variable Aufnahme von Vitamin K mit der Nahrung,
- fehlende ausreichende Speicherreserven von Vitamin K im Körper,
- die Abhängigkeit der Aktivität der γ-Carboxylase von der Vitamin-K-Konzentration,
- die geschwindigkeitsbestimmende Rolle von VKORC1 bei der Carboxylierung.

Einige Studien haben bereits eine Rationale für diesen Ansatz geschaffen: Es konnte bei gesunden, stabil antikoagulierten Probanden gezeigt werden, dass die gleichzeitige Vitamin K-Gabe von 150 µg für Frauen bzw. 200 µg für Männer nicht zu einem signifikanten, klinisch relevanten

**Tab. 17.1.** VKORC1-implementierte Dosisalgorithmen

| Studie | Dosismodell* | $R^2$ [%] |
|---|---|---|
| Sconce et al. 2005 | √Dosis = 0,628 – 0,0135 (Alter) – 0,240 (CYP*2) – 0,370 (CYP*3) – 0,241 (VKORC1) + 0,0162 (Höhe)<br>CYP2C9-Genotyp: 0, 1, oder 2 für die Anzahl der *2- und *3-Allele innerhalb des Genotyps des Patienten;<br>VKORC1 c.-1639-Genotyp: Eingabe 1 für GG, 2 für GA und 3 für AA | 54,2 |
| Herman et al. 2006 | log (Dosis) = 0,690 – 0,315 (VKORC1 c.-1639AA) – 0,124 (VKORC c.1-1639GA) – 0,194 (CYP2C9 1 Variante *2 oder *3) – 0,383 (CYP2C9 2 Varianten *2 oder *3) – 0,005 (Alter) + 0,188 (KOF) + 0,107 (VKORC1 c.492 + 134GA) | 60 |
| Takahashi et al. 2006 | Erhaltungsdosis für Patienten mit homozygoten Wildtyp für CYP2C9 und VKORC1 = 6,6 – 0,035 × Alter + 0,031 × KG<br>– 1,7 mg (CYP2C9*2 oder *3 heterozygot)<br>– 2,8 mg (CYP2C9*2 oder *3 homozygot)<br>– 1,3 mg (VKORC c.1-1639 GG/GA)<br>– 2,9 mg (VKORC1 c.-1639AA) | 57 |
| Tham et al. 2006 | 10 [exp (0,838 – 0,005 × Alter + 0,003 × KG – 0,189 × CYP2C9*3 – 0,283 × VKORC1 c.1-1639AA – 0,119 × VKORC1 c.-1639GA)] | 60 |
| Millican et al. 2007 | exp [1,0138 – 2,5047 × ln (INR3) + 0,0690 × 1. Warfarindosis + 0,0385 × 2. Warfarindosis + 0,2474 × ln (geschätzter Blutverlust) × ln (INR3) – 0,1912 × CYP2C9*2 – 0,4793 × CYP2C9*3 + 0,1835 × Raucher – 0,1132 × VKORC1 c.-1639-Genotyp + 0,2724 × Ziel-INR]<br>VKORC1 c.-1639 Genotyp: Eingabe 0 für GG, 1 für GA und 2 für AA | 79 |

* Eingabe jeweils: Dosis [mg/Tag], Alter [Jahre], Höhe [Zentimeter], Körperoberfläche [$m^2$], Körpergewicht [kg]
*log* Logarithmus; *exp* Exponent; *INR* »international normalized ratio«; *KG* Körpergewicht; *KOF* Körperoberfläche

Abfall der INR unter oraler Antikoagulation führt. In verschiedenen weiteren Studien, z. T. randomisert und plazebokontrolliert, konnte eine signifikante Verringerung der Zeit außerhalb des therapeutischen Bereichs in den mit Vitamin K supplementierten Patientengruppen nachgewiesen werden.

Auch wenn die zurzeit vorliegenden Daten für eine stabilere Antikoagulation durch dieses neue Prinzip sprechen, werden die Studien durch die geringen Fallzahlen und folglich durch das fehlende Erreichen des primären Endpunktes von Blutungsereignissen limitiert, sodass zunächst keine Empfehlung für eine generelle Supplementierung mit Vitamin K gegeben werden kann. In Einzelfällen kann es aber durchaus sinnvoll sein, Patienten mit einem besonders stark schwankenden Verlauf der INR täglich mit einer Vitamin-K-Dosis im Bereich der von der WHO empfohlenen Mindesteinnahme zu substituieren.

## Literatur

Berkner KL (2000) The vitamin K-dependent carboxylase. J Nutr 130: 1877–1880
Flockhart DA, O'Kane D, Williams MS et al. (2008) ACMG Working Group on Pharmacogenetic Testing of CYP2C9, VKORC1 Alleles for Warfarin Use. Pharmacogenetic testing of CYP2C9 and VKORC1 alleles for warfarin. Genet Med 10: 139–150
Geisen C, Watzka M, Sittinger K, Steffens M et al. (2005) VKORC1 haplotypes and their impact on the inter-individual and inter-ethnical variability of oral anticoagulation. Thromb Haemost 94: 773–779
Herman D, Peternel P, Stegnar M et al. (2006) The influence of sequence variations in factor VII, gamma-glutamyl carboxylase and vitamin K epoxide reductase complex genes on warfarin dose requirement. Thromb Haemost 95:782–787
Marchetti G, Caruso P, Lunghi B et al. (2008) Vitamin K-induced modification of coagulation phenotype in VKORC1 homozygous deficiency. J Thromb Haemost 6: 797–803
Millican EA, Lenzini PA, Milligan PE et al. (2007) Genetic-based dosing in orthopedic patients beginning warfarin therapy. Blood 110:151–155
Oldenburg J, Bevans CG, Müller CR et al. (2006) Vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (VKORC1): the key protein of the vitamin K cycle. Antioxid Redox Signal 8: 347–353
Oldenburg J, Watzka M, Rost S et al. (2007a) VKORC1: molecular target of coumarins. J Thromb Haemost 5 (Suppl1): 1–6
Oldenburg J, Bevans CG, Fregin A et al. (2007b) Current pharmacogenetic developments in oral anticoagulation therapy: the influence of variant VKORC1 and CYP2C9 alleles. Thromb Haemost 98: 570–578
Oldenburg J, Marinova M, Müller-Reible C et al. (2008) The vitamin K cycle. Vitam Horm 78: 35–62
Rieder MJ, Reiner AP, Gage BF et al. (2005) Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. N Engl J Med 352: 2285–2293
Rost S, Fregin A, Ivaskevicius V et al. (2004) Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2. Nature 427: 537–541
Sconce EA, Khan TI, Wynne HA et al. (2005) The impact of CYP2C9 and VKORC1 genetic polymorphism and patient characteristics upon warfarin dose requirements: proposal for a new dosing regimen. Blood 106:2329–2233
Takahashi H, Wilkinson GR, Nutescu EA et al. (2006) Different contributions of polymorphisms in VKORC1 and CYP2C9 to intra- and interpopulation differences in maintenance dose of warfarin in Japanese, Caucasians and African-Americans. Pharmacogenet Genomics 16:101–110
Tham LS, Goh BC, Nafziger A et al. (2006) A warfarin-dosing model in Asians that uses single-nucleotide polymorphisms in vitamin K epoxide reductase complex and cytochrome P450 2C9. Clin Pharmacol Ther 80:346–355
U.S. Food and Drug Administration (2007) Questions and Answers on new labelling for Warfarin (marketed as Coumadin). http://www.fda.gov/cder/drug/infopage/warfarin/qa.htm. Cited 03 Feb 2009
Vanakker OM, Martin L, Gheduzzi D et al. (2007) Pseudoxanthoma elasticum-like phenotype with cutis laxa and multiple coagulation factor deficiency represents a separate genetic entity. J Invest Dermatol 127: 581–587
Wu SM, Cheung WF, Frazier D et al. (1991) Cloning and expression of the cDNA for human gamma-glutamyl carboxylase. Science 254: 1634–6163
Yuan HY, Chen JJ, Lee MT et al. (2005) A novel functional VKORC1 promoter polymorphism is associated with inter-individual and interethnic differences in warfarin sensitivity. Hum Mol Genet 2005; 14: 1745–1751

# 19 Faktor XI

*P. Hopmeier*

## Einleitung

Faktor XI (FXI) spielt eine zentrale Rolle im Rahmen der Hämostase. Seine physiologische Funktion besteht im Wesentlichen darin, das durch Kontakt mit Gewebeaktivator ausgelöste Gerinnungsgeschehen zu beschleunigen und zu verstärken; zusätzlich wirkt FXI antifibrinolytisch. FXI propagiert somit die plasmatische Gerinnung und führt zu erhöhter Stabilität bereits gebildeter Fibringerinnsel.

Sowohl erniedrigte als erhöhte FXI-Spiegel werden mit pathologischen Prozessen in Zusammenhang gebracht: Personen mit erniedrigtem FXI können eine zum Teil erheblich verstärkte Blutungsneigung aufweisen. Erhöhte FXI-Spiegel gelten als milder Risikofaktor für venöse Thrombosen und sind möglicherweise auch mit arteriellen Verschlüssen assoziiert.

## 19.1 Einleitung

FXI ist ein Zymogen, das durch Proteolyse in eine aktive Serinprotease (S1-Peptidase, EC3.4.21.27) umgewandelt wird. Im Blut zirkuliert FXI als Dimer aus 2 identischen Untereinheiten zu je 80 kDa, die über eine Disulfidbrücke verbunden sind (Abb. 19.1). Die Konzentration im Plasma beträgt 3–7 μg/ml (20–40 nmol/l). Der Großteil, wenn nicht der gesamte FXI im Blut, ist in nichtkovalenter Form an hochmolekulares Kininogen (»high molecular weight kininogen«, HMWK) gebunden; allerdings ist nicht geklärt, ob beide oder nur ein Monomer des FXI-Dimers eine solche Komplexbildung eingehen (Gailani et al. 2001). Hauptsyntheseort von FXI sind Hepatozyten, doch wurde FXI-Protein auch in den Langerhans-Inseln des Pankreas sowie in den Tubuli und Sammelkanälchen der Niere identifiziert. Nachgewiesen wurde Faktor-XI-Messenger-RNA (FXI-mRNA) zudem in Thrombozyten, in Megakaryozytenzelllinien sowie in geringer Menge in Leukozyten (Tarumi et al. 2002; Walsh 2001; Martincic et al. 1999; Podmore et al. 2004, Cheng et al. 2008). Das FXI-Dimer wird intrazellulär gebildet, die Dimerform scheint für die normale Sekretion erforderlich zu sein (Meijers et al. 1992a; Pugh et al. 1995).

Die untere Grenze des Referenzbereiches für die normale FXI-Aktivität im Plasma wird im Allgemeinen mit 60–70% und die obere Grenze mit 130–140% von der eines Normalplasmapools angegeben (Chanarin 1989; Kolde 2001; Kratz et al. 2004). Die Halbwertszeit im Plasma beträgt etwa 52 h (Siegel 2006). FXI wird auch als Plasmathromboplastinantezedent (PTA) bezeichnet.

## 19.2 Molekularer Aufbau

Das FXI-Molekül ist ein Polypeptid aus 607 Aminosäuren. Am N-Terminus finden sich 4 repetitive Strukturen, die als Apple-Domänen (A1-, A2-, A3- und A4-Domäne) bezeichnet werden; am C-Terminus ist die Serinproteasendomäne lokalisiert. Es sind 5 potenzielle N-Glykolisierungsstellen bekannt; der Carboanhydratanteil von FXI macht etwa 5% der Molekülmasse aus (Fujikawa et al. 1986; McMullen et al. 1991). Mit Plasmapräkallikrein besteht eine hohe Ho-

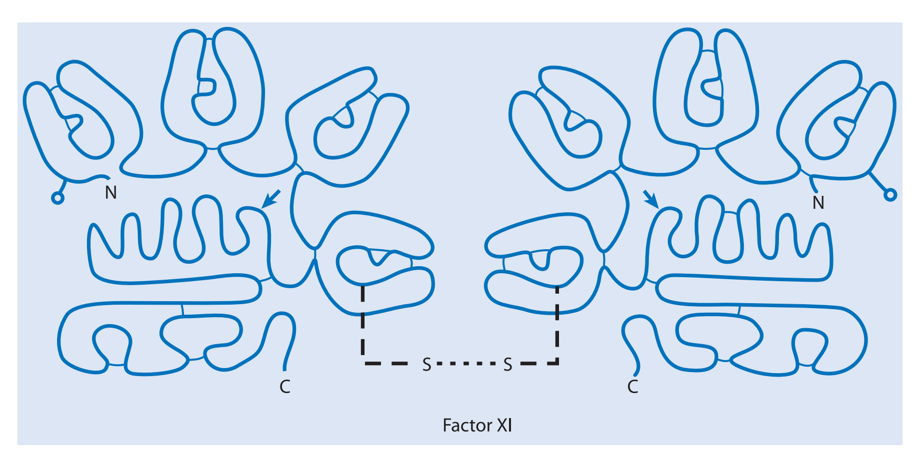



**Abb. 19.1.** Struktur des Faktor-XI-Dimers. Plasmafaktor XI zirkuliert als Dimer aus 2 Faktor-XI-Molekülen, die über eine Disulfidbrücke verbunden sind. Jedes Faktor-XI-Monomer enthält 4 Apple-Domänen sowie 1 Proteasendomäne. *Pfeile* Position, an der Faktor XI bei Aktivierung gespalten wird (Aus Davie 1991)

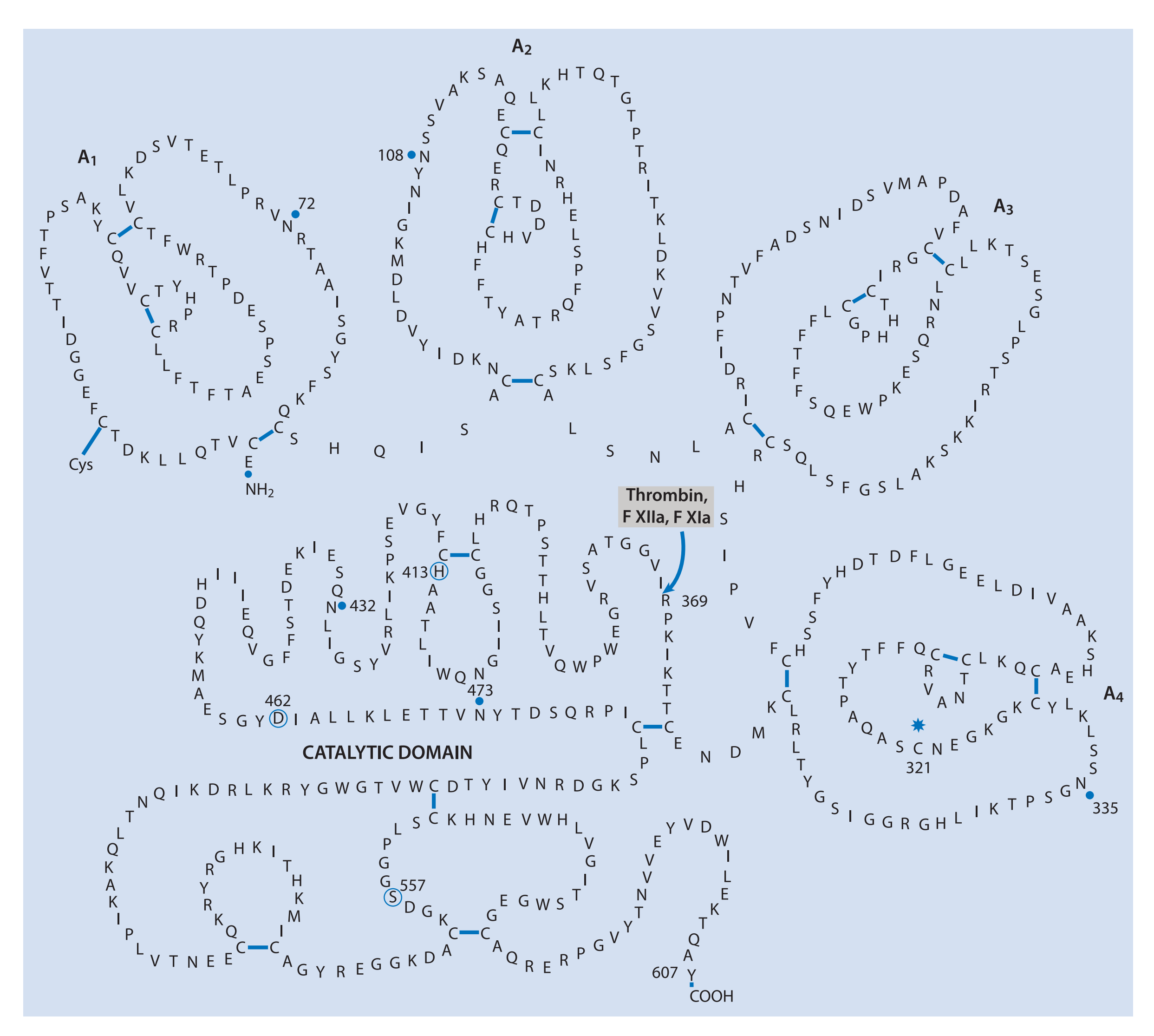



**Abb. 19.2.** Aminosäuresequenz und Domänen von Faktor XI (FXI). Disulfidbrücken sind durch eine *dicke blaue Verbindungslinie* gekennzeichnet. Die 4 Apple-Domänen sind mit A1, A2, A3 und A4 bezeichnet. Cys321, das für die Ausbildung der Disulfidbrücke zwischen 2 Faktor-XI-Monomeren essenziell ist, ist mit einem Stern (*) markiert. Der *Pfeil* zeigt auf die Bindung zwischen Arg369 und Ile370, die bei Aktivierung von FXI durch Thrombin, FXIIa oder FXIa gespalten wird. Die Aminosäuren der katalytischen Trias (His413, Asp462, Ser557) sind von einem *Kreis* umgeben. Mit einem blauen Punkt (•) markiert sind potenzielle Stellen für N-Glykosilierung (Asn72, Asn108, Asn335, Asn432 und Asn473)

mologie; die Aminosäuresequenzen sind zu 58% identisch (Fujikawa et al. 1986).

Bei der Aktivierung von FXI durch proteolytische Spaltung entstehen eine schwere und eine leichte Kette, die über eine Disulfidbrücke verbunden bleiben. Die ersten 369 Aminosäuren bilden die schwere Kette mit einem Molekulargewicht von 47 kDa, die restlichen 238 Aminosäuren die leichte mit einem Molekulargewicht von 33 kDa (Abb. 19.2; McMullen et al. 1991). Die Dimerstruktur von FXI im Blut bleibt bei der Aktivierung erhalten (McMullen et al. 1991; Minnema et al. 1999; Papagrigoriou et al. 2006; Seligsohn 2007).

### 19.2.1 Die Apple-Domänen

Die schwere Kette enthält die 4 Apple-Domänen. Sie weisen eine Länge von jeweils 86 Aminosäuren auf, sind durch kurze Zwischenstücke miteinander verbunden und weisen jeweils 3 charakteristische Disulfidbrücken auf (Asakai et al. 1987; Meijers et al. 1992b; Minnema et al. 1999). Auf den Apple-Domänen konnte eine Reihe von Bindungsstellen lokalisiert und großteils auch die beteiligten Aminosäuren identifiziert werden.

#### Die Apple-1-Domäne

Die Apple-1-(A1-)Domäne trägt je eine Bindungsstelle für Thrombin, für Prothrombin (Kringle-2-Domäne) und für HMWK (Baglia u. Walsh 2000). Zum Teil überlappen sich die Bindungsstellen, sterisch stellen sie aber jeweils unabhängige funktionelle Strukturen dar. Die Bindungsstelle für Thrombin konnte der Sequenz Ala45-Arg54 zugeordnet werden (Baglia et al. 1996), die für die Kringle-2-Domäne von Prothrombin der Sequenz Ala45-Ser86 (Baglia et al. 2000). Die Bindung der A1-Domäne an HMWK wird aufgrund experimenteller Ergebnisse offensichtlich über die Aminosäuresequenz Val59-Lys83 vermittelt, und zwar zumindest zum Teil durch die Aminosäurereste Val64 und Ile77 (Baglia et al. 1992; Seaman et al. 1994).

#### Die Apple-2-Domäne

Der A2-Domäne, und zwar der Sequenz Ala134-Leu172, wurde eine Bindungsstelle für FIX zugeordnet (Baglia et al. 1991). Allerdings ist nicht sicher, dass die publizierten Ergebnisse tatsächlich auf einer Interaktion von FIX mit der A2-Domäne beruhen. Sie könnten auch auf eine direkte Bindung der zur Untersuchung verwendeten Peptide an FXI zurückzuführen seien (Sun et al. 1999).

#### Die Apple-3-Domäne

In einer späteren Untersuchung wurde eine für die Aktivierung von FIX notwendige Sequenz auf der A3-Domäne lokalisiert. Die Hauptfunktion kommt dabei den Aminosäuren Ile183-Val191 zu, doch dürften weitere Sequenzen (zwischen Ser195-Ile197 oder Phe260-Ser264) zum Erreichen der normalen Aktivierungsfunktion notwendig sein (Sun et al. 1999). Auf der A3-Domäne befindet sich des Weiteren eine Bindungsstelle für Heparin (Arg250-Ala256), wobei den Lysinresten Lys252, Lys253 sowie Lys255 besondere Bedeutung zukommt (Ho et al. 1998; Zhao et al. 1998).

Ferner findet sich auf der A3-Domäne eine Bindungsstelle, mit der FXI in Gegenwart von HMWK und $Zn^{2+}$ (oder von Prothrombin und $Ca^{2+}$) an aktivierte Thrombozyten binden kann (Sinha et al. 1984; Greengard et al. 1986; Baglia et al. 1995; Baglia et al. 2004a). In Anwesenheit von HMWK und $Zn^{2+}$ wird diese Bindung auf dem FXI-Molekül durch die Aminosäuren Ser248, Arg250, Lys255, Phe260 und Gln263 vermittelt (Baglia et al. 2004a). Auch in alleiniger Gegenwart von $Zn^{2+}$ (ohne HMWK) bindet FXI an dasselbe Thrombozytenprotein, allerdings sind in diesem Fall an der Bindung andere Aminosäuren des FXI beteiligt als in Gegenwart von HMWK, nämlich Lys252 und Lys253 (Baglia et al. 1995; Baglia et al. 2002; Baglia et al. 2004a; Baglia et al. 2004b). Diese Bindungsstelle des FXI deckt sich teilweise mit jener für Heparin, doch stellt sie eine unterschiedliche funktionelle Einheit dar (Ho et al. 1998).



#### Die Apple-4-Domäne

Der A4-Domäne konnte die Bindungsstelle für FXII zugeordnet und auf der Sequenz Ala317-Gly350 lokalisiert werden (Baglia et al. 1993). Des Weiteren ist die A4-Domäne essenziell für die Dimerbildung von FXI. Die Dimerisierung wird zunächst über eine nichtkovalente Bindung zweier FXI-Monomere eingeleitet, wobei für die korrekte Anlagerung der beiden Proteine die Aminosäuren L284, I290 und Y329 notwendig sind (Zucker et al. 2007). Anschließend wird das FXI-Dimer durch Ausbildung einer Disulfidbrücke zwischen den Cysteinresten 321 stabilisiert (Meijers et al. 1992b; Dorfman u. Walsh 2001).

### 19.2.2 Die leichte Kette

Die leichte Kette schließlich trägt das für die meisten Serinproteasen typische aktive Zentrum, gegeben durch die katalytische Trias His413, Asp462 und Ser557 (van der Graaf et al. 1983; Minnema et al. 1999).

## 19.3 Aktivierung von Faktor XI

FXIIa, Thrombin und FXIa können FXI aktivieren (Naito u. Fujikawa 1991; Gailani u. Broze 1991; Baglia et al. 2004a). Diese Aktivierung erfolgt durch Spaltung der Bindung zwischen den Aminosäuren Arg369 und Ile370. FXIa kann dann FIX in Gegenwart von $Ca^{2+}$ über 2 sequenzielle Spaltungen aktivieren und so den Gerinnungsprozess weiterführen (Bouma u. Meijers 2000; Seligsohn 2007).

In-vitro-Studien zur Aktivierung von FXI wurden meist unter Zusatz künstlicher Oberflächen durchgeführt; die physiologische Relevanz der Untersuchungsergebnisse ist deshalb fraglich. So wurde eine FXII-abhängige Aktivierung von FXI unter Zusatz von Kaolin nachgewiesen (Brunnée et al. 1993). Die vermutlich durch Spuren von FXIa induzierte Aktivierung von FXI (»Autoaktivierung«) erfolgte in Anwesenheit von Dextransulfat als negativ geladene Oberfläche.

Auch Thrombin kann gemeinsam mit Dextransulfat – und in deutlich geringerem Ausmaß mithilfe von Heparin und Sulfatiden – FXI aktivieren (Naito u. Fujikawa 1991; Gailani u. Broze 1993a). Darüber hinaus kann Thrombin auch bei Zusatz physiologischer Glykosaminoglykane FXI aktivieren, und durch $Zn^{2+}$ wird die Reaktion verstärkt (Gailani u. Broze 1993b). Allerdings wurde für die Glykosaminoglykane Heparansulfat und Dermatansulfat gezeigt, dass zur FXI-Aktivierung sehr hohe Thrombinkonzentrationen notwendig sind, wie sie der kompletten Prothrombinaktivierung in unverdünntem Plasma entsprechen würden (Wuillemin et al. 1996).

Selbst bei Abwesenheit einer künstlichen Oberfläche kann Thrombin FXI aktivieren, doch ist diese Reaktion vermutlich zu langsam, um physiologisch relevant zu sein – ganz abgesehen von dem Umstand, dass die Enzymaktivität von freiem Thrombin in der Zirkulation schnell durch Antithrombin gehemmt würde (von dem Borne et al. 1994; Landes Bioscience 2000–2005). Andererseits wird FXI auch durch fibringebundenes Thrombin, das vor der Inaktivierung durch Antithrombin geschützt ist, aktiviert; die Reaktion wird durch unfraktioniertes Heparin um das 68-fache beschleunigt, niedermolekulares Heparin und Danaparoid haben einen geringen Effekt (von dem Borne et al. 1996).

Nach einem heute weitgehend anerkannten Modell erfolgt die physiologische Aktivierung von FXI und die folgende Propagierung des »intrinsic pathway« hauptsächlich auf der Plättchenoberfläche. Dabei wird der Blutgerinnungsvorgang zunächst durch Expression und Aktivierung von Thrombokinase und Komplexbildung mit FVIIa bei Gewebeverletzungen ausgelöst. Über den »extrinsic pathway« kommt es zur Aktivierung von FIX und FX und in der Folge zur Bildung von Thrombin.

Der aktivierte FX bildet allerdings rasch einen Komplex mit Tissue Factor Pathway Inhibitor (TFPI); dieser Komplex hemmt die Aktivität von FVIIa und unterbindet damit die weitere Thrombinbildung, sodass über diesen Mechanismus nur geringe Mengen an Thrombin generiert werden können. Das gebildete Thrombin bindet an Thrombozyten und führt zu deren Aktivierung. Dadurch kommt es zur Exposition von FXI-Rezeptoren auf der Thrombozytenoberfläche. Diese konnten zunächst als Glykocalicin identifiziert werden (das ist der lösliche extrazelluläre Teil der Glykoprotein-(GP-)Ibα-Untereinheit des GP-Ib-IX-V-Komplexes); anschließend wurde die Bindungsstelle auf leucinreichen repetitiven Sequenzen (LRR-Sequenzen) innerhalb der $NH_2$-terminalen globulären Domäne des GP Ibα näher lokalisiert. Von den 7 LRR-Sequenzen des GP Ibα dürften dabei die Sequenzen 1 (Leu36-Leu59) und 7 (Leu177-Ala 200) die größte Rolle spielen (Baglia et al. 2002; Baglia et al. 2004a; Baglia et al. 2004b).

Wie erwähnt, kann FXI in Anwesenheit von $Zn^{2+}$ auch ohne Beteiligung von HMWK an aktivierte Thrombozyten binden. Physiologisch dürfte aber wesentlich sein, dass FXI großteils oder auch zur Gänze als Komplex mit HMWK zirkuliert. Denn durch die Anlagerung von HMWK an die A1-Domäne wird die Struktur der A3-Domäne von FXI derart modifiziert, dass sich die Anzahl der FXI-Bindungsstellen für GP Ibα von rund 770 auf etwa 1.500 verdoppelt und damit der Gerinnungsablauf entsprechend beschleunigt wird. Alternativ zu HMWK (in Gegenwart von $Zn^{2+}$) kann auch Prothrombin (in Gegenwart von $Ca^{2+}$) die FXI-Bindung an aktivierte Thrombozyten induzieren. Dies ist möglicherweise die Ursache dafür, dass – anders als Patienten mit FXI-Mangel – Personen mit HMWK-Mangel nicht bluten (Baglia et al. 2004a).

Auch die Bindungsstelle für Thrombin befindet sich auf dem GP-Ibα-Molekül, allerdings ist sie in der anionischen Region der GP-Ibα-Struktur lokalisiert und unterscheidet sich damit von derjenigen für FXI innerhalb der LRR-Sequenzen des GP Ibα-Moleküls (Yun et al. 2003; Baglia et al. 2004b).

Für die bloße Ausbildung des GP-Ibα-FXI-Komplexes genügt es im Prinzip, wenn FXI in monomerer Form vorliegt (Baglia et al. 2004b). Für die FXI-Aktivierung durch Thrombin ist aber aufgrund der molekularen Struktur von FXI anzunehmen, dass die FXI-Dimerstruktur erforderlich ist, weil am FXI-Monomer die Bindungsstelle für Thrombin auf der A1-Domäne und die Bindungsstelle für GP Ibα mit der ebenfalls auf dieser Struktur befindlichen Thrombinbindungsregion sterisch durch die zentral lokalisierte FXI-Serinproteasendomäne voneinander getrennt sind. Andererseits sind beim FXI-Dimer die GP-Ibα-Bindungsstelle auf dem einen Monomer und die Thrombinbindungsstelle auf der A1-Domäne des anderen Monomers stark angenähert und räumlich so angeordnet, dass die gleichzeitige Bindung eines Thrombinmoleküls an beide Regionen möglich ist (Papagrigoriou et al. 2006).

Das Modell der FXI-Aktivierung durch Thrombin basiert somit auf der Bildung eines quartären Komplexes. Dabei bindet ein Monomer des FXI-Dimers mit seiner A3-Domäne an LRR-Sequenzen eines GP-Ibα-Moleküls, das zweite Monomer ist frei. Thrombin bindet einerseits (mit dem »anion binding exosite II«) an die anionische Region des GP Ibα und andererseits (mit dem »anion binding exosite I«) an die A1-Domäne des freien FXI-Monomers. In dieser Konstellation ist das Thrombinmolekül dann räumlich derart orientiert, dass es FXI aktivieren kann (Gailani et al. 2001; Walsh 2001; Yun et al. 2003; Baglia et al. 2004b; Papagrigoriou et al. 2006).

FXIa aktiviert FIX, und über den »intrinsic pathway« kommt es zur Bildung von Thrombin; dieses aktiviert neuen FXI, welcher wiederum die Thrombinbildung induziert. Durch diese Schleife wird der Gerinnungsvorgang lokal sehr stark beschleunigt und verstärkt, wodurch schnell ein hämostatisch wirksames Gerinnsel entsteht (Walsh 2001).

An Thrombozyten gebundener FXI kann nicht nur durch Thrombin, sondern auch durch FXIIa aktiviert werden. Zwar ist Thrombin der bessere Aktivator (Baglia u. Walsh 2000), doch kann im Prinzip der Gerinnungsvorgang auf diese Weise ohne Mitwirkung des »extrinsic pathway« ausgelöst werden. Dies könnte eine Rolle spielen, wenn Thrombozyten nicht durch Thrombin, sondern durch Adenosindiphosphat (ADP), Kollagen oder andere Substanzen aktiviert werden (Walsh 2001).

Das vorliegende Modell lässt einige Fragen offen. So werden zwar die Bindungsverhältnisse von Thrombin und

FXI auf der Thrombozytenoberfläche detailliert erklärt, nicht aber, wie und mit welcher Kinetik die beiden Monomere des FXI-Dimerkomplexes durch das gebundene Thrombin letztlich aktiviert werden (Emsley J. Persönliche Mitteilung, September 2007). Auch ist nicht beschrieben, ob ein oder beide XIa-Moleküle des FXI-Dimers FIX aktivieren. Allerdings lassen die Ergebnisse einer Studie die Interpretation zu, dass für die beiden zur FIX-Aktivierung führenden sequenziellen Spaltungen der Kontakt mit beiden FXIa-Molekülen des Dimers erforderlich ist (Wolberg et al. 1997; Gailani et al. 2001). Ungeklärt ist auch, warum die Zahl der FXI-Bindungsstellen auf GP Ibα mit nur etwa 1.500 pro Thrombozyt ermittelt wurde, obwohl die Zahl der potenziellen Bindungsstellen (GP-Ib-IX-V-Komplexe) bei etwa 25.000 liegt (Baglia et al. 2002). Schließlich sind keine detaillierten Modelle zur Aktivierung von FXI durch FXIa oder FXIIa publiziert.

## 19.4 Funktion von Faktor XI

Aus heutiger Sicht werden dem FXI 2 Hauptwirkungen innerhalb des Hämostasesystems zugeschrieben. Beide Funktionen basieren auf der durch FXIa induzierten Bildung von Thrombin. Es sind dies:

### Verstärkung des initial durch Gewebsthromboplastin ausgelösten Gerinnungsvorganges

Prinzip ist, wie oben beschrieben, dass geringe Mengen von Thrombin, die zunächst über den »extrinsic pathway« gebildet werden, FXI aktivieren, der gebildete FXIa größere Mengen von Thrombin generiert und dieses in einer Rückkoppelung wiederum zusätzlichen FXI aktiviert. Durch diese Aufschaukelung der Aktivierung von Gerinnungsfaktoren kommt es zu einer deutlichen Verstärkung der Gerinnung und Zunahme der Gerinnselbildung (von dem Borne et al. 1995; von dem Borne et al. 2006).

### Hemmung der Fibrinolyse

Die Wirkung basiert auf dem Umstand, dass das laufend über FXIa-Wirkung gebildete Thrombin in der Lage ist, ein Enzym, den »thrombin-activated fibrinolysis inhibitor« (TAFI), in effizienter Weise zu aktivieren. Die Aktivierung von TAFI wird deutlich gesteigert, wenn Thrombin an Thrombomodulin gebunden ist, und deshalb ist der Thrombin-Thrombomodulin-Komplex vermutlich der physiologisch relevante Aktivator (Bajzar et al. 1996a). TAFI spaltet carboxyterminale Lysinreste von Fibrin ab, wodurch die Zahl der Plasminogenbindungsstellen auf Fibrin vermindert wird. Dies führt unter physiologischen Bedingungen zu einer verminderten Lysierbarkeit von Gerinnseln durch Gewebeplasminogenaktivator (t-PA) sowie möglicherweise auch durch »single-chain urokinase-type plasminogen activator« (scu-PA) und »urokinase-type plasminogen activator« (u-PA) und damit zu einem antifibrinolytischen Effekt (von dem Borne et al. 1995; Bajzar et al. 1996b; Bajzar et al. 1998; Braat u. Rijken 1999; Bouma u. Meijers 2000; Mutch et al. 2003; von dem Borne et al. 2006).

Da der Thrombin-Thrombomodulin-Komplex auch Protein C, also einen Inhibitor der Gerinnung, massiv aktiviert, wird sowohl eine antikoagulatorische als auch eine antifibrinolytische Wirkung gesetzt. Welcher Effekt unter physiologischen Bedingungen überwiegt, ist zurzeit ungeklärt (Bouma u. Meijers 2000).

## 19.5 Hemmung von Faktor XIa

In Plasma oder gereinigten Systemen konnte gezeigt werden, dass eine ganze Reihe von Proteaseinhibitoren, darunter Antithrombin (Beeler et al. 1986; Soons et al. 1987; Scott u. Colman 1989), C1-Esteraseinhibitor (Meijers et al. 1988a), α1-Proteaseinhibitor (Heck u. Kaplan 1974), $\alpha_2$-Antiplasmin (Saito et al. 1979), Tissue Factor Pathway Inhibitor 2 (Petersen et al. 1996; Bombeli et al. 1997), Plasminogenaktivatorinhibitor 1 (Berrettini et al. 1989) und Protein-C-Inhibitor (Meijers et al. 1988b) FXIa hemmen.

Von physiologischer Bedeutung dürfte Proteasenexin-II sein. Dieses Protein weist zwar nur eine geringe Plasmakonzentration auf, findet sich aber in den α-Granula von Thrombozyten und wird bei deren Aktivierung freigesetzt, sodass es in der Umgebung aktivierter Thrombozyten zu einer deutlichen Konzentrationserhöhung kommt. Proteasenexin-II ist ein effektiver Inhibitor von FXIa. Dabei ist allerdings der an die Plättchenmembran gebundene FXIa (in Gegenwart HMWK und $Zn^{2+}$) vor der Inaktivierung geschützt, nicht aber FXIa in Lösung. Die Wirkung von Poteasenexin-II könnte somit darin bestehen, die Ausbreitung des Gerinnungsvorganges über die Thrombozytenoberfläche hinaus zu hemmen, ohne das lokale Gerinnungsgeschehen an der Thrombozytenmembran zu beeinflussen.

Die Hemmwirkung von Proteasenexin-II wird durch Heparin deutlich gesteigert. Möglicherweise hat das Heparansulfat von Endothelzellen eine ähnliche Wirkung, sodass Proteasenexin-II auch die Gerinnung am Endothel hemmen könnte (van Nostrand et al. 1990; Zhang et al. 1997; Walsh 2001; Navaneetham et al. 2005).

Ein direkter effektiver Inhibitor von FXIa ist zudem der Protein-Z-abhängige Proteaseinhibitor (ZPI) (Han et al. 2000; Tabatabai et al. 2001; Rezaie et al. 2006). Untersuchungen an einem Mausmodell legen nahe, dass der FXIa-Hemmung durch ZPI auch physiologische Bedeutung zukommt (Zhang et al. 2008).

19

## 19.6 Genetik von Faktor XI

Das Gen für humanen FXI befindet sich auf dem langen Arm des Chromosoms 4 (4q35; Ventura et al. 2000; NCBI 2007). Es besteht aus 15 Exons (1–15) und 14 Introns (A–N) und erstreckt sich über 23 kbp. Exon 1 wird nicht translatiert, Exon 2 kodiert ein Signalpeptid aus 18 Aminosäuren, das nicht in das endgültige FXI-Molekül integriert wird (Asakai et al. 1987). Zirkulierender FXI ist somit das Genprodukt der Exons 3–15. Die 4 Apple-Domänen der schweren Kette werden – ausgehend von Exon 3 – von jeweils 2 benachbarten Exons kodiert. Es folgt die leichte Kette, die von den Exons 11–15 kodiert wird (Asakai et al. 1987; Minnema et al. 1999).

Für FXI-mRNA aus Thrombozyten wurde berichtet, dass hier das Exon 5 fehlt, sodass es sich dabei um ein alternatives Splicing-Produkt handeln könnte; allerdings wurde diese Beobachtung durch spätere Untersuchungen nicht bestätigt (Hsu et al. 1998; Martincic et al. 1999; Podmore et al. 2004; eigene Beobachtung). Der Großteil des FXI im Plasma stammt aus Hepatozyten, der Anteil des FXI aus Thrombozyten wurde mit etwa 0,5% angegeben. Dabei ist zurzeit nicht gesichert, ob die FXI-Aktivität aus Thrombozyten de facto plasmatischen Ursprungs ist oder auf Synthese durch Megakaryozyten zurückgeht und ob in diesem Fall das kodierende Gen mit dem hepatalen FXI-Gen identisch ist (Walsh 2001; Podmore et al. 2004).

## 19.7 Faktor-XI-Mangel

### 19.7.1 Genetik

Im Allgemeinen gilt der genetische FXI-Mangel (MIM +264900) als selten; die Frequenz wird zumeist mit etwa 1:1.000.000 angegeben (O´Connell 2004; Diamant et al. 2004; Siegel 2006). Allerdings wird der Zustand vermutlich oft nicht erkannt und die tatsächliche Häufigkeit deswegen unterschätzt. So wiesen in einer britischen Studie etwa 5% aller Patienten mit Blutungsneigung einen FXI-Mangel auf (Bolton-Magss 2000).

Im Gegensatz zu den meisten Populationen findet sich ein FXI-Mangel häufig in der jüdischen Bevölkerung. Der Mangel geht hier im Wesentlichen auf 2 Mutationen zurück, die sogenannte Typ-II-Mutation (Glu117Stop) und die Typ-III-Mutation (Phe283Leu). Die Typ-II-Mutation, nicht aber die Typ-III-Mutation, findet sich verbreitet bei irakischen Juden, die als ältester jüdischer Bevölkerungsteil gelten. Die Allelfrequenz wird mit 0,0167 angegeben. Die Mutation dürfte vor mehr als 120 Generationen entstanden sein. Jüngeren Datums ist die Typ-III-Mutation, die sich gemeinsam mit der Typ-II-Mutation vor allem bei aschkenasischen Juden findet, einem großen jüdischen Bevölkerungsteil, der zur Zeit der Römer begann nach Europa auszuwandern. Die Allelfrequenz für die Typ-II- und Typ-III-Mutation in dieser Bevölkerungsgruppe beträgt 0,0217 bzw. 0,0254 (Peretz et al. 1997; Goldstein et al. 1999).

Eine Ursache für die Häufigkeit des FXI-Mangels in der jüdischen Bevölkerung könnte sein, dass der ausgeprägte Mangelzustand (FXI-Aktivität <15 U/dl) vermutlich einen Schutzfaktor gegen ischämische Schlaganfälle darstellt (Salomon et al. 2008). Bei Mäusen konnte gezeigt werden, dass sich der Mangel an FXI günstig auf die Prognose einer peritonealen Sepsis auswirkt (Tucker et al. 2007).

Relativ verbreitet ist ein FXI-Mangel aufgrund einer einzelnen Mutation (Cys128Stop) bei Personen, die aus Großbritannien und Irland stammen; die Allelfrequenz in Großbritannien dürfte bei etwa 0,01 liegen (Bolton-Magss et al. 2004a). Eine andere Mutation (Cys38Arg) findet sich gehäuft in der französisch-baskischen Bevölkerung; die Allelfrequenz beträgt etwa 0,005 (Zivelin et al. 2002). Bei Personen afrikanischer Herkunft wurden in Screening-Untersuchungen wiederholt 2 Mutationen (Gln226Arg und Ser248Asn) nachgewiesen, doch ist die tatsächliche Allelfrequenz nicht bekannt. (Sun et al. 2001).

Insgesamt sind gegenwärtig 183 Mutationen publiziert, die mit einem FXI-Mangel verbunden sind, und die Zahl neu entdeckter Mutationen ist rasch im Steigen begriffen (Dossenbach-Glaninger et al. 2005; Zivelin u. Seligsohn 2007). Vorwiegend handelt es sich um Punktmutationen, die einen Aminosäureaustausch zur Folge haben (Saunders et al. 2006; Dossenbach-Glaninger et al. 2005; Zivelin u. Seligsohn 2007). Nachgewiesen wurden sie meist bei Einzelpersonen oder in isolierten Familien. Weiterhin sind eine Reihe von Polymorphismen im FXI-Gen im Zusammenhang mit verschiedenen FXI-Mutationen beschrieben (Dossenbach-Glaninger et al. 2005).

Bei der Mehrzahl der untersuchten genetischen Veränderungen wird ein proportionaler Abfall der FXI-Aktivität und des FXI-Antigens beobachtet. Ursache sind einerseits Mutationen, die mit der Proteinsynthese interferieren, wie »nonsense mutations«, Deletionen, »frame shifts«, Splicing-Defekte sowie die Bildung einer instabilen Polypeptidkette. Erwähnenswert ist ein weiterer Mechanismus, der bei 2 Mutationen mit einem Aminosäureaustausch innerhalb von Exons beschrieben ist; hierbei verändert die Mutation jeweils die Sequenz von Splicing-Enhancer-Elementen innerhalb des Exons, wodurch es zu einer stärkeren Reduktion der FXI-Bildung kommt, als es aufgrund von Expressionsstudien mit FXI-cDNA der Patienten zu erwarten wäre (Zivelin et al. 2007). Andere Mutationen können mit der Bildung oder Sekretion der FXI-Dimere interferieren. Allerdings sind auch einige Mutationen beschrieben, bei denen es offensichtlich zur Sekretion pathologischen FXI kommt und die FXI-Aktivität stärker vermindert ist als das

FXI-Antigen (Mannhalter et al. 1987; Sun et al. 2001; Kravtsov et al. 2005; Mitchell 2007).

Auffällig ist, dass bei Personen, die für einen FXI-Mangel heterozygot sind, die im Plasma gemessene FXI-Aktivität nicht selten unter 50% liegt. Dies wird u. a. damit erklärt, dass nicht nur zumeist die Bildung und/oder Sekretion von aus abnormalen Untereinheiten zusammengesetzten FXI-Homodimeren gestört ist, sondern zum Teil auch die Bildung und Sekretion von FXI-Dimeren, die aus einem normalen und einem mutierten FXI-Molekül bestehen (Kravtsov et al. 2004; Kravtsov et al. 2005).

### 19.7.2 Klinik

Klinisch verläuft der kongenitale FXI-Mangel oft unauffällig. Bei symptomatischen Personen äußert er sich in der Regel in Form von Sickerblutungen oder Nachblutungen infolge chirurgischer Eingriffe. Dies gilt besonders bei solchen Eingriffen, die Gewebe mit stark fibrinolytischer Aktivität betreffen, wie Operationen der Prostata und der harnableitenden Wege, Zahnextraktionen und Tonsillektomien. Der auftretende Blutverlust kann dabei erheblich sein. Gelegentlich tritt die erste Blutungsepisode auch nach der Beschneidung auf. Bei Frauen sind Menorrhagien und verstärkte postpartale Blutungen beschrieben (Siegel 2002; Drummond et al. 2003; Salomon et al. 2005; Canadian Hemophilia Society 2006). Epistaxis kann vorkommen, andere spontane Blutungen und Hämatomneigung sind hingegen atypisch (Seligsohn 1993; Sandoval et al. 2002; O'Connell 2003; Drummond et al. 2003).

Bezüglich der Prognose weist der FXI-Mangel eine Besonderheit auf. Zwar ist es so, dass zwischen dem im Plasma gemessenen FXI-Spiegel und der Blutungsneigung eine gewisse Korrelation besteht und schwere Blutungen meist erst bei sehr niedrigem FXI-Spiegel auftreten (z. B. bei homozygoter Typ-II-Mutation und einer gemessenen FXI-Aktivität von ca. 1%; Keularts et al. 2001). Andererseits können aber Personen mit ausgeprägtem FXI-Mangel asymptomatisch bleiben und umgekehrt heterozygote Personen mit relativ hohem FXI-Spiegel massiv bluten. Selbst bei ein und demselben Patienten kann die Blutungsneigung variieren. Somit lässt der gemessene FXI-Spiegel letztlich keine individuelle Prognose bezüglich der Blutungsneigung eines Mangelpatienten zu (Hancock et al. 1991; Bolton-Magss 2000; Siegel et al. 2002; Castaman et al. 2008).

Die Ursache für dieses klinische Phänomen ist unbekannt, doch gibt es dazu eine Reihe von Hypothesen, u. a. dass FXI-Aktivität aus Thrombozyten den Mangel an Plasmafaktor XI teilweise ausgleichen kann (Podmore et al. 2004), dass FXI-unabhängige Aktivierung von TAFI eine Rolle spielt (Bouma et al. 1999) oder dass durch gleichzeitige Vererbung von anti- oder prokoagulatorischen Anlagen die Blutungstendenz mit beeinflusst wird (O'Connell 2004). Nicht zuletzt kommt als Ursache infrage, dass die üblichen APTT-abhängigen Assays zur FXI-Messung verschiedene Funktionen des FXI-Moleküls, z. B. eine gestörte Bindung an Plättchen, nicht entsprechend erfassen und somit das Messergebnis eine höhere FXI-Aktivität anzeigen kann als es der tatsächlichen FXI-Aktivität im Blut entspricht (Sun et al. 2001; Hopmeier 2004).

Patienten mit ausgeprägtem FXI-Mangel können nach Plasmasubstitution oder Gabe eines FXI-Konzentrats einen FXI-Inhibitor entwickeln. Beschrieben ist auch die Bildung eines Inhibitors nach Verabreichung von Anti-Rhesus-D-Immunglobulin, das geringe Mengen an FXI enthält (Lawler et al. 2002; Salomon et al. 2003; Zucker et al. 2007b).

### 19.7.3 Therapie

Signifikante Spontanblutungen bei Personen mit FXI-Mangel sind selten (Seligsohn 1993; O'Connell 2003; Drummond et al. 2003), eine prophylaktische Dauertherapie ist bei Personen mit FXI-Mangel nicht indiziert. Hingegen kann es besonders bei Personen mit schwerem FXI-Mangel infolge von chirurgischen Eingriffen oder anderen Traumen zu teils massiven Blutungen kommen, besonders dann, wenn Gewebe mit stark fibrinolytischer Aktivität betroffen sind (Salomon et al. 2006; Seligsohn 2007).

Therapeutisch bewährt hat sich die Gabe von Fresh Frozen Plasma, häufig in Kombination mit antifibrinolytischen Präparaten. Bei Zahnextraktionen konnte mit antifibrinolytischer Therapie allein (Tranexamsäure, 12 h vor bis 7 Tage nach Extraktion) ein Therapieerfolg erzielt werden (Bolton-Magss 2000; Siegel et al. 2002). In Einzelfällen wurden auch Fibrinkleber oder Desmopressin angewendet (Rakocz et al. 1993; Siegel et al. 2002). Für Substitutionszwecke stehen zudem FXI-Konzentrate zur Verfügung. Empfohlen werden sie für Patienten mit sehr niedrigem FXI-Spiegel, insbesonders bei Operationen an Geweben mit hoher fibrinolytischer Aktivität (Bolton-Magss 1998). Allerdings sind FXI-Konzentrate in den USA und den meisten europäischen Ländern nicht lizenziert und nur auf einer »named patient basis« erhältlich (Santagostino et al. 2000).

Die Präparate können zu einer systemischen Aktivierung der Gerinnung führen (Mannucci et al. 1994) und besonders bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit oder bereits aktivierter Gerinnung thromboembolische Komplikationen auslösen (Bolton-Magss 1998; Santagostino et al. 2000). Aus diesem Grunde wird empfohlen, keine zusätzlichen Antifibrinolytika zu verwenden, höchstens 30 U/kgKG FXI zu applizieren und beim FXI-Blutspiegel 50–70 U/dl nicht zu überschreiten; allerdings konnte in der Praxis zwischen der verabreichten FXI-Dosis und den beobachteten Komplikationen kein statistischer Zusammen-

hang festgestellt werden (Bolton-Magss 1998; Bolton-Magss 2000). In einer neueren Studie wurden bei 724 Infusionen, die an 213 Patienten verabreicht wurden, bei insgesamt 19 Patienten unerwünschte Wirkungen festgestellt, darunter bei 7 Patienten Thrombosen. Die durchschnittlich gemessene FXI-Aktivität während der Substitution betrug 90% (Gascoigne et al. 2007).

Eine neuere Form der Substitutionstherapie ist die Gabe von rekombinantem aktiviertem FVII (Bolton-Magss et al. 2004b; O'Connell 2004; Schulman u. Németh 2006). Auch hier stellt sich die Frage nach einer ausreichenden, aber nicht zu hohen Dosierung, da auch nach FVIIa-Applikation für verschiedene Indikationen in einzelnen Fällen thrombotische Komplikationen beobachtet wurden (O'Connell 2003; Brown 2005). Erste Erfahrungen gehen dahin, dass beim FXI-Mangel mit einer deutlich niedrigeren Dosierung FVIIa verabreicht werden kann. Das ist auch theoretisch verständlich, da bei dieser Behandlungsform die Beschleunigung des Gerinnungsvorgangs primär über die thrombininduzierte Aktivierung der Faktoren V und VIII erfolgt, die ja bei FXI-Mangelpatienten nicht beeinträchtigt ist (Davie et al. 1991; Schulman u. Németh 2006). So war ein Bolus von 20 μg/kgKG FVIIa, gefolgt von einer Dauerinfusion, die den FVIIa-Plasmaspiegel über mehrere Tage bei etwa 3 IU/ml hielt, effektiv (Schulman u. Németh 2006). Auch bei Patienten mit FXI-Inhibitor wurde rekombinanter FVIIa, allerdings in höherer Dosierung als beim einfachen FXI-Mangel, erfolgreich eingesetzt (Hedner 1990; Billon et al. 2001; Bern et al. 2005).

## 19.8 Erhöhte F XI-Spiegel

Erhöhte FXI-Spiegel wurden sowohl bei venösen als auch bei arteriellen thromboembolischen Ereignissen wiederholt nachgewiesen. Zurzeit ist ungeklärt, ob die Mehrzahl der Fälle mit FXI-Erhöhung eine genetische Ursache hat und wie lange eine solche Erhöhung persistiert. Jedenfalls wurde bisher keine genetische Veränderung beschrieben, die mit einer isolierten FXI-Erhöhung assoziiert ist. Einzig in einer Studie an Thrombosepatienten und ihrer Familien mit gleichzeitig bestehender FVIII-, FIX- und FXI-Erhöhung konnte gezeigt werden, dass in diesen Fällen die FXI-Erhöhung offensichtlich genetisch bedingt ist (Lavigne et al. 2003).

### 19.8.1 Venöses Thromboserisiko

In der Leiden Thrombophilia Study wurde bei Untersuchung an 473 Patienten mit venösen Thromboembolien und 474 Kontrollen ein zunehmendes Thromboserisiko mit steigendem FXI festgestellt; für Patienten mit einer FXI-Konzentration über der 90. Perzentile war das Risiko im Vergleich zu den übrigen Patienten etwa verdoppelt (FXI-Antigen > 120,8%; Odd-Ratio [OR] 2,2; 95% Konfidenzintervall [CI] 1,5–3,2; Meijers et al. 2000). In einer anderen Studie wurde bei Kombination von hoher FXI-Aktivität und hohem TAFI-Spiegel ein verstärktes Risiko für ein venöses Thromboserezidiv festgestellt (Relatives Risiko [RR] 2,9; 95% CI, 1,3–6,9; (Eichinger et al. 2004). Auch bei Personen mit heterozygotem FV Leiden wurde ein erhöhtes venöses Thromboembolierisiko bei erhöhtem TAFI, allerdings nicht bei erhöhter FXI-Aktivität, beschrieben (Libourel et al. 2002).

### 19.8.2 Arterielles Thromboserisiko

In einer Studie an 78 Patienten unter 55 Jahren mit zerebralen Ereignissen (65 mit Schlaganfall und 13 mit transitorisch-ischämischen Attacken) ergab sich u. a. ein erhöhtes Risiko für die Patienten mit erhöhter FXI-Aktivität (OR 5,3; Yang et al. 2006). Eine andere Studie fand, dass bei erhöhtem FXI (>1,44 IU/ml) das Schlaganfallrisiko bei gleichzeitig bestehender Dyslipidämie, nicht aber bei normalem Lipidmuster, deutlich erhöht war (Santamaría et al. 2007).

Die Bedeutung erhöhter FXI-Spiegel für die koronare Herzkrankheit und den Herzinfarkt ist zurzeit ungeklärt. So wurde in einer Untersuchung an 560 Männern unter 70 Jahren mit erstmaligem Herzinfarkt für die Gruppe mit einer FXI-Aktivität in der höchsten Quintile gegenüber der Gruppe in der niedrigsten Quintile eine Risikoerhöhung um das 1,8-fache (OR adjusted 1,8; 95% CI, 1,2–2,7) festgestellt. Interessanterweise war das Risiko zusätzlich deutlich erhöht, wenn gleichzeitig die FXII-Aktivität vermindert war; bei Kombination der Gruppe mit höchstem FXI und niedrigstem FXII betrug die adjusted OR 6,4 (95% CI, 2,2–18,0; Doggen et al. 2006). Auch in einer Herzkatheterstudie an 22 Frauen wurde eine schwere koronare Herzkrankheit signifikant häufiger festgestellt, wenn der FXI erhöht war (128% vs. 82%, p<0,04) (Berliner et al. 2002). Hingegen konnte in einer Untersuchung an 200 Frauen unter 49 Jahren mit Herzinfarkt keine signifikante Beziehung zur FXI-Aktivität nachgewiesen werden (Tanis et al. 2006). Ebensowenig zeigte sich in einer Studie an 200 Überlebenden (174 Männer und 26 Frauen) eines Herzinfarktes ein signifikanter Einfluss erhöhter FXI-Aktivität (Merlo et al. 2002).

### Literatur

Asakai R, Davie EW, Chung DW (1987) Organization of the gene for human factor XI. Biochemistry 26(23): 7221–7228

Baglia FA, Walsh PN (2000) Thrombin-mediated feedback activation of factor XI on the activated platelet surface is preferred over contact activation by factor XIIa or factor XIa. J Biol Chem 275(27): 20514–20519

Baglia FA, Jameson BA, Walsh PN (1991) Identification and chemical synthesis of a substrate binding site for factor IX on coagulation factor XIa. J Biol Chem 266(35): 24190–24197

Baglia FA, Jameson BA, Walsh PN (1992) Fine mapping of the high weight kininogen binding site on blood coagulation factor XI through the use of rationally designed synthetic analogs. J Biol Chem 267(6): 4247–4252

Baglia FA, Jameson BA, Walsh PN (1993) Identification and characterization of a binding site for factor XIIa in the Apple 4 domain of coagulation factor XI. J Biol Chem 268(6): 3838–3844

Baglia FA, Jameson BA, Walsh PN (1995) Identification and characterization of a binding site for platelets in the Apple 3 domain of coagulation factor XI. J Biol Chem 270(12): 6734–6740

Baglia FA, Badellino KO, Ho DH et al. (1996) A binding site thrombin in the apple 1 domain of factor XI. J Biol Chem 271(7): 3652–3658

Baglia FA, Badellino KO, Ho DH et al. (2000) A binding site for the kringle II domain of prothrombin in the apple 1 domain of factor XI. J Biol Chem 275(41): 31954–31962

Baglia FA, Badellino KO, Li CQ et al. (2002) Factor XI binding to the platelet glycoprotein Ib-IX-V complex promotes factor XI activation by thrombin. J Biol Chem 277(3): 1662–1668

Baglia FA, Gailani D, López JA et al. (2004a) Identification of a binding site for glycoprotein Ibα in the apple 3 domain of factor XI. J Biol Chem 279(44): 45470–45476

Baglia FA, Shrimpton CN, Emsley J et al. (2004b) Factor XI interacts with the leucine-rich repeats of glycoprotein Ibα on the activated platelet. J Biol Chem 279(47): 49323–49329

Bajzar L, Morser J, Nesheim M (1996a) TAFI, or plasma procarboxypeptidase B, couples the coagulation and fibrinolytic cascades through the thrombin-thrombomodulin complex. J Biol Chem 271(28): 16603–166608

Bajzar L, Nesheim ME, Tracy PB (1996b) The profibrinolytic effect of activated protein C in clots formed from plasma is TAFI-dependent. Blood 88(6): 2093–2100

Bajzar L, Nesheim M, Morser J et al. (1998) Both cellular and soluble forms of thrombomodulin inhibit fibrinolysis by potentiating the activation of thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor. J Biol Chem 273(5): 2792–2798

Beeler DL, Marcum JA, Schiffman S et al. (1986) Interaction of factor XIa and antithrombin in the presence and absence of heparin. Blood 67(5): 1488–1492

Berliner JI, Rybicki AC, Kaplan RC et al. (2002) Elevated levels of factor XI are associated with cardiovascular disease in women. Throm. Res. 107(1–2): 55–60

Bern MM, Sahud M, Zhukov O et al. (2005) Treatment of factor XI inhibitor using recombinant activated factor VIIa. Haemophilia 11(1): 20–25

Berrettini M, Schleef RR, Espana F et al. (1989) Interaction of type 1 plasminogen activator inhibitor with the enzymes of the contact activation system. J Biol Chem 264(20): 11738–11743

Billon S, LeNiger M, Escoffre-Barbe M et al. (2001) The use of recombinant factor VIIa (NovoSeven) in a patient with factor XI deficiency and a circulating anticoagulant. Blood Coagul Fibrinolysis 12(7): 551–553

Bolton-Maggs PHB (1998) The management of factor XI deficiency. Haemophilia 4(4): 683–688

Bolton-Maggs PHB (2000) Factor XI deficiency and its management. Haemophilia 6(Suppl.1): 100–109

Bolton-Maggs PH, Peretz H, Butler R et al. (2004a) A common ancestral mutation (C128X) occurring in 11 non-Jewish families from the UK with factor XI deficiency. J Thromb Haemost 2(6): 918–24

Bolton-Maggs PHB, Perry DJ, Chalmers EA et al. (2004b) The rare coagulation disorders – review with guidelines for management from the United Kingdom Haemophilia Centre Doctors´ Organisation. Haemophilia 10(5): 593–628

Bombeli T, Mueller M, Haeberli A (1997) Anticoagulant properties of the vascular endothelium. Thromb Haemost 77(3): 408–423

Bouma BN, Meijers JCM (2000) Role of blood coagulation factor XI in downregulation of fibrinolysis. Curr Opin Hematol 7(5): 266–272

Bouma BN, Mosnier LO, Meijers JC et al. (1999) Factor XI dependent and independent activation of thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) in plasma associated with clot formation. Thromb Haemost 82(6): 1703–1708

Braat EAM, Rijken DC (1999) The inactivation of single-chain urokinase-type plasminogen activator by thrombin may provide an additional explanation for the antifibrinolytic effect of factor XI. Thromb Haemost 81 (4): 657

Brown SA (2005) What dose of recombinant activated factor VII should be used in patients with factor XI deficiency. Haemophilia 11(4): 430–431

Brunnée T, La Porta C, Reddigari SR et al. (1993) Activation of factor XI in plasma is dependent on factor XII. Blood 81(3): 580–586

Canadian Hemophilia Society (2006): Factor XI deficiency. http://www.hemophilia.ca/en/bleeding-disorders/other-factor-deficiencies/factor-xi-deficiency--hemophilia-c/ – Cited 03/2009

Castaman G, Giacomelli SH, Dragani A et al. (2008) Severe factor XI deficiency in the Abruzzo region of Italy is associated to different FXI gene mutations. Haematologica 93(6): 957–958

Chanarin I (1989) Laboratory Haematology. An account of laboratory techniques. Churchill Livingstone, Oxford

Cheng Q, Kantz J, Poffenberger G et al. (2008) Factor XI protein in human pancreas and kidney. Thromb Haemost 100(1): 158–160

Davie EW, Fujikawa K, Kisiel W (1991) The coagulation cascade: initiation, maintenance, and regulation. Biochemistry 30(43): 10363–10370

Diamant J, Perez AR, Strachmann Bacal N et al. (2004) Factor XI deficiency. Einstein 2(2): 115–116

Doggen CJ, Rosendaal FR, Meijers FC (2006) Levels of intrinsic coagulation factors ant the risk of myocardial infarction among men: Opposite ansd synergistic effects of factors XI and XII. Blood 198(13): 4045–4051

Dorfman R, Walsh PN (2001) Noncovalent interactions of the apple 4 domain that mediate coagulation factor XI homodimerization. J Biol Chem 276(9): 6429–6438

Dossenbach-Glaninger A, Hopmeier P (2005) Coagulation factor XI: a database of mutations and polymorphism associated with factor XI deficiency, Update 26-Feb 2009. http://www.wienkav.at/kav/kar/texte_anzeigen.asp?ID=7137 – Cited 03/2009

Drummond Z, Retzinger G (2003) Factor XI deficiency: a review. Lab Lines 9(2): http://pathology.uc.edu/LABLINES/V9I2.pdf – Cited 03/2009

Eichinger S, Schönauer V, Weltermann A et al. (2004) Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor and the risk for recurrent venous thromboembolism. Blood 103(10): 3773–3776

Fujikawa K, Chung W, Hendrickson LE et al. (1986) Amino acid sequence of human factor XI, a blood coagulation factor with four tandem repeats that are highly homologous with plasma prekallikrein. Biochemistry 25(9): 2417–2424

Gailani D, Broze GJ (1991) Factor XI activation in a revised model of blood coagulation. Science 253(5022): 909–912

Gailani D, Broze GJ (1993a) Factor XII-independent activation of factor XI in plasma: effects of sulfatides on tissue factor-induced coagulation. Blood 82(3): 813–819

Gailani D, Broze GJ (1993b) Effects of glycosaminoglycans on factor XI activation by thrombin. Blood Coagul Fibrinolysis 4(1): 15–20

Gailani D, Ho D, Sun M-F et al. (2001) Model for a factor IX activation complex on blood platelets: dimeric conformation of factor XIa is essential. Blood 97(10): 3117–3122

Gascoigne EW, Dash CH, Gillanders KR (2007) Clinical experience with a factor XI (FXI) concentrate. J Thromb Haemost 5(Suppl.2): Abstract P-S-208

Goldstein DB, Reich DE, Bradman N et al. (1999) Age estimates of two common mutations causing factor XI deficiency: Recent genetic

drift is not necessary for elevated disease incidence among Ashkenazi Jews. Am. J Hum Genet 64(4): 1071–1075

Greengard JS, Heeb MJ, Ersdal E et al. (1986) Binding of coagulation factor XI to washed human platelets. Biochemistry 25(13): 3884–3890

Han X, Fiehler R, Broze GJ Jr (2000) Characterization of the proteinZ-dependent protease inhibitor. Blood 96(9): 3049–3055

Hancock JF, Wieland K, Pugh RE et al. (1991) A molecular genetic study of factor XI deficiency. Blood 77(9): 1942–1948

Heck LW, Kaplan AP (1974) Substrates of Hageman factor. I. Isolation and characterization of human factor XI (PTA) and inhibition of the activated enzyme by alpha 1-antitrypsin. J Exp Med 140(6): 1615–1630

Hedner U (1990) Factor VIIa in the treatment of haemophilia. Blood Coagul Fibrinolysis 1(3): 307–317

Ho DH, Badellino K, Baglia FA et al. (1998) A binding site for heparin in the apple 3 domain of factor XI. J Biol Chem 273(26): 16382–16390

Hopmeier P (2004) F XI deficiency. In: Fuchs J, Podda M (Ed) Encyclopedia of medical genomics and proteomics. Informa Health Care, London, New York, Melbourne, Stockholm. DOI 10.1081/E-EDGP-120020582

Hsu TC, Shore SK, Seshsmma T et al. (1998) Molecular cloning of platelet factor XI, an alternative splicing product of the plasma factor XI gene. J Biol Chem 273(22): 13787–13793

Keularts IMLW, Zivelin A, Seligsohn U et al. (2001) The role of factor XI in thrombin generation induced by low concentrations of tissue factor. Thromb Haemost 85(6): 1060–1065

Kolde H-J (2001) Haemostasis. Physiology, Pathology, Diagnostics. Pentapharm Ltd., Basel

Kratz A, Ferraro M, Sluss PM et al. (2004) Laboratory reference values. N Engl J Med 351(15): 1548–1563

Kravtsov DV, Wu W, Meijers JCM et al. (2004) Dominant factor XI deficiency caused by mutations in the factor XI catalytic domain. Blood 104(1): 128–134

Kravtsov DV, Monahan PE, Gailani D (2005) A classification system for cross-reactive material-negative factor XI deficiency. Blood 105(12): 4671–4673

Landes Bioscience 2000–2005. Eurekah Bioscience Collection. Coagulation. Factor XI, TAFI and DIC. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=eurekah.chapter.491 – Cited 03/2009

Lavigne G, Mercier E, Queré I et al. (2003) Thrombnophilic families with inheritably associated high levels of coagulation factors VIII, IX and XI. J Thromb Haemost 1(10): 2134–2139

Lawler P, White B, Pye S et al. (2002) Successful use of recombinant factor VIIa in a patient with inhibitor secondary to severe factor XI deficiency. Haemophilia 8(2): 145–148

Libourel EJ, Bank I, Meinardi JR et al. (2002) Co-segregation of thrombophilic disorders in factor V Leiden carriers; the contributions of factor VIII, factor XI, thrombin activatable fibrinolysis inhibitor and lipoprotein(a) to the absolute risk of venous thromboembolism. Haematologica 87(10): 1068–1073

Mannhalter C, Hellstern P, Deutsch E (1987) Identification of a defective factor XI cross-reacting material in a factor XI-deficient patient. Blood 70(1): 31–37

Mannucci PM, Bauer KA, Santagostino E et al. (1994) Activation of the coagulation cascade after infusion of a factor XI concentrate in congenitally deficient patients. Blood 84(4): 1314–1319

Martincic D, Kravtsov V, Gailani D (1999) Factor XI messenger RNA in human platelets. Blood s94(10): 3397–3404

McMullen BA, Fujikawa K, Davie EW (1991) Location of the disulfide bonds in human coagulation factor XI: The presence of tandem apple domains. Biochemistry 30(8): 2056–2060

Meijers JC, Vlooswijk RA, Bouma BN (1988a) Inhibition of human blood coagulation factor XIa by C-1 inhibitor. Biochemistry 27(3): 959–963

Meijers JC, Kanters DH, Vlooswijk RA et al. (1988b) Inactivation of human plasma kallikrein and factor XIa by protein C inhibitor. Biochemistry 27(12): 4231–4237

Meijers JCM, Davie EW, Chung DW (1992a) Expression of human blood coagulation factor XI: Characterization of the defect in factor XI type III deficiency. Blood 79(6): 1435–1440

Meijers JC, Mulvihill ER, Davie EW et al. (1992b) Apple four in human blood coagulation factor XI mediates dimer formation. Biochemistry 31(19): 4680–4684

Meijers JC, Tekelenburg WL, Bouma BN et al. (2000) High levels of coagulation factor XI as a risk factor for venous thrombosis. N Engl J Med 342(10): 696–701

Merlo C, Wuillemin WA, Redondo M et al. (2002) Elevated levels of plasma prekallikrein, high moleculaer weight kininogen and factor XI in coronary heart disease. Atherosklerosis 161(2): 261–267

Minnema MC, ten Cate H, Hack CE (1999) The role of factor XI in coagulation: A matter of revision. Semin. Thromb. Hemost 25(4): 419–428

Mitchell MJ, Dai L, Clarke JB et al. (2007) Characterisation of five factor XI mutations. Thromb Haemostas 97(6): 884–889

Mutch NJ, Moore NR, Wang E et al. (2003) Thrombus lysis by uPA, scuPA and tPA is regulated by plasma TAFI. J Thromb Haemost 1(9): 2000–2007

Naito K, Fujikawa K (1991) Activation of human blood coagulation factor XI independent of factor XII. J Biol Chem 266(12): 7353–7358

Navaneetham D, Jin L, Pandey P et al. (2005) Structural and mutational analyses of the molecular interactions between the catalytic domain of factor XIa and the Kunitz protease inhibitor domain of protease nexin 2. J Biol Chem 280(43): 36165–36175

NCBI (2009) Entrez Gene. Update 11-Jan 2009. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=gene&cmd=retrieve&list_uids=2160. Cited 03/2009

O´Connell NM (2003) Factor XI deficiency – from molecular genetics to clinical management. Blood Coagul Fibrinolysis 14(Suppl.1): S59–S64

O´Connell NM (2004) Factor XI deficiency. Semin Hematol 41(1,Suppl.1): 76–81

Papagrigoriou E, McEwan PA, Walsh PN et al. (2006) Crystal structure of the factor XI zymogen reveals a pathway for transactivation. Nat. Struct. Mol. Biol. 13(6): 557–558

Peretz H, Mulai A, Usher S et al. (1997) The two common mutations causing factor XI deficiency in Jews stem from distinct founders: One of ancient Middle Eastern origin and another of more recent European origin. Blood 90(7): 2654–2659

Petersen LC, Sprecher CA, Foster DC et al. (1996) Inhibitory properties of a novel human Kunitz-type protease inhibitor homologous to tissue factor pathway inhibitor. Biochemistry 35(1): 266–272

Podmore A, Smith M, Savidge G et al. (2004) Real-time quantitative analysis of factor XI mRNA variants in human platelets. J Thromb Haemost 2(10): 1713–1719

Pugh RE, McVey JH, Tuddenham EGD et al. (1995) Six point mutations that cause factor XI deficiency. Blood 85(6): 1509–1516

Rakocz M, Mazar A, Varon D et al. (1993) Dental extractions in patients with bleeding disorders. The use of fibrin glue. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 75(3): 280–282

Rezaie AR, Sun MF, Gailani D (2006) Contributions of basic amino acids in the autolysis loop of factor XIa to serpin specificity. Biochemistry 45(31): 9427–9433

Saito H, Goldsmith GH, Moroi M et al. (1979) Inhibitory spectrum of alpha 2-plasmin inhibitor. Proc Natl Acad Sci USA 76(4): 2013–2017

Salomon O, Zivelin A, Levnat T et al. (2003) Prevalence, causes and characterization of factor XI inhibitors in patients with inherited factor XI deficiency. Blood 101(12): 4783–4788

Salomon O, Steinberg DM, Tamarin I et al (2005) Plasma replacement therapy during labor is not mandatory for women with severe factor XI deficiency. Blood Coagul Fibrinolysis 16(1): 37–41
Salomon O, Steinberg DM, Seligsohn U (2006) Variable bleeding manifestations characterize different types of surgery in patients with severe factor XI deficiency enabling parsimonious use of replacement therapy. Haemophilia 12(5): 490–493
Salomon O, Steinberg DM, Tamarin I et al (2005) Plasma replacement therapy during labor is not mandatory for women with severe factor XI deficiency. Blood Coagul Fibrinolysis 16(1): 37–41
Santagostino E, Mannucci PM, Bonomi AB (2000) Guidelines on replacement therapy for haemophilia and inherited coagulation disorders in Italy. Haemophilia 6(1): 1–10
Santamaría A, Oliver A, Borrell M et al. (2007) Higher risk of ischaemic stroke associated with factor XI levels in dyslipidaemic patients. Int J Clin Pract 61(11): 1819–1823
Saunders RE, Perkins SJ, O´Connell NM et al. (2006) F XI Deficiency Mutation Database. Version 2.1, updated Oct 2008. http://www.factor-xi.org/ – Cited 03/2009
Schulman S, Németh G (2006) An illustrative case and a review on the dosing of recombinant factor VIIa in congenital factor XI deficiency. Haemophilia 12(3): 223–227
Scott CF, Colman RW (1989) Factors influencing the acceleration of human factor XIa inactivation by antithrombin III. Blood 73(7): 1873–1879
Seaman FS, Baglia FA, Gurr JA et al. (1994) Binding of high-molecular-mass kininogen to the Apple 1 domain of factor XI is mediated in part by Val64 and Ile77. Biochem J 304(Pt3): 715–721
Seligsohn U (1993) Factor XI deficiency. Thromb Haemost 70(1): 68–71
Seligsohn U (2007) Factor XI in haemostasis and thrombosis: Past, present and future. Thromb Haemost 98(1): 84–89
Siegel JE, Kouides PA (2002) Menorrhagia from a haematologist's point of view. Part II: management. Haemophilia 8(3): 339–347
Siegel JE (2006) Factor XI deficiency. eMedicine Journal, Updated: May 24, 2006. http://www.emedicine.com/med/topic3515.htm – Cited 03/2009
Sinha D, Seaman FS, Koshy A et al. (1984) Blood coagulation factor XIa binds specifically to a site on activated human platelets distinct from that for factor XI. J Clin Invest 73(6): 1550–1556
Soons H, Janssen-Claessen T, Tans G et al. (1987) Inhibition of factor XIa by antithrombin III. Biochemistry 26(15): 4624–4629
Sun M-F, Zhao M, Gailani D (1999) Identification of amino acids in the factor XI apple 3 domain required for activation of factor IX. J Biol Chem 274(51): 36373–36378
Sun M-F, Baglia FA, Ho D et al. (2001) Defective binding of factor XI-N248 to activated platelets. Blood 98(1): 125–129
Tabatabai A, Fiehler R, Broze GJ Jr (2001) Protein Z circulates in plasma in a complex with protein Z-dependent protease inhibitor. Thromb Haemost 85(4): 655–660
Tanis B, Algra A, van der Graaf Y et al. (2006) Procoagulant factors and the risk of myocardial infarction in young women. Eur J Haematol 77(1): 67–73
Tarumi T, Kravtsov DV, Zhao M et al. (2002) Cloning and Characterization of the human factor XI gene promoter. J Biol Chem 277(21): 18510–18516
Tucker EI, Gailani D, Cheng Q et al. (2007) Reduced mortality of peritoneal sepsis in factor XI deficient mice. J Thromb Haemost 5 (Suppl.2): Abstract P-W-011
van der Graaf F, Greengard JS, Bouma BN et al. (1983) Isolation and functional characterization of the active light chain of activated human blood coagulation factor XI. J Biol Chem 258(16): 9669–9675
van Nostrand WE, Schmaier AH, Farrow JS et al. (1990) Protease nexin-II (amyloid beta-protein precursor): a platelet alpha-granule protein. Science 248(4956): 745–748
Ventura C, Santos AIM, Tavares A et al. (2000) Molecular genetic analysis of factor XI deficiency: Identification of five novel gene alterations and the origin of type II mutation in Portuguese families. Thromb Haemost 84(5): 833–840
von dem Borne PA, Koppelman SJ, Bouma BN et al. (1994) Surface independent facor XI activation by thrombin in the presense of high molecular weight kininogen. Thromb Haemost 72(3): 397–402
von dem Borne PA, Meijers JC, Bouma BN (1995) Feedback activation of factor XI by thrombin in plasma results in additional formation of thrombin that protects fibrin clots from fibrinolysis. Blood 86(8): 3035–3042
von dem Borne PA, Meijers JC, Bouma BN (1996) Effect of heparin on the activation of factor XI by fibrin-bound thrombin. Thromb Haemost 76(3): 347–353
von dem Borne PA, Cox LM, Bouma BN (2006) Factor XI enhances fibrin generarion and inhibits fibrinolysis in a coagulation model initiated by surface-coated tissue factor. Blood Coagul Fibrinolysis 17(4): 251–257
Walsh PN (2001) Roles of platelets and factor XI in the initiation of blood coagulation by thrombin. Thromb Haemost 86(1): 75–82
Wolberg A, Morris D, Stafford D (1997) Factor IX activation by factor XIa proceeds without release of a free intermediate. Biochemistry 36(14): 4074–4079
Wuillemin WA, Mertens K, ten Cate H et al. (1996) Thrombin-mediated activation of endogenous factor XI in plasma in the presence of physiological glycosaminoglycans occurs only with high concentrations of thrombin. Br J Haematol 92(2): 466–472
Yang DT, Flanders MM, Kim H et al. (2006) Elevated factor XI activity levels are associated with an increased odds ratio for cerebrovascular events. Am J Clin Pathol 126(3): 411–415
Yun TH, Baglia FA, Myles T et al. (2003) Thrombin activation of factor XI on activated platelets requires the interaction of factor XI and platelet glycoprotein Ibα with thrombin anion binding exosites I and II, respectively. J Biol Chem 278(48): 48112–48119
Zhang Y, Scandura JM, van Nostrand WE et al. (1997) The mechanism by which heparin promotes the inhibition of coagulation factor XIa by protease nexin-2. J Biol Chem 272(42): 26139–26144
Zhang J, Tu Y, Lu L et al. (2008) Protein Z-dependent protease inhibitor deficiency produces a more severe murine phenotype than protein Z deficiency. Blood 111(10): 4973–4978
Zhao M, Abdel-Razek T, Sun MF et al. (1998) Characterization of a heparin binding site on the heavy chain of factor XI. J Biol Chem 273(47): 31153–31159
Zivelin A, Seligsohn U (2007) Mutations causing rare bleeding disorders. In: Supplement to chapter 116 of Williams Hematology 7th Edition 2006: Mutations in patients with factor XI deficiency. http://www.med.unc.edu/isth/mutations-databases/FactorXI_2007.htm. Updated February 15: 2007
Zivelin A, Bauduer F, Ducout L et al. (2002) Factor XI deficiency in French Basques is caused predominantly by an ancestral Cys38Arg mutation in the factor XI gene. Blood 99(7): 2448–2454
Zivelin A, Zucker M, Salomon O (2007) Factor XI phenotype-genotype correlations. J Thromb Haemost 5(Suppl.2): Abstract SYM-M-033
Zucker M, Zivelin A, Landau M et al. (2007a) Three residues (L284, I290, Y329) in the apple 4 domain of factor XI (F XI) are essential for covalent dimerization of FXI subunits. J Thromb Haemost 5(Suppl.2): Abstract O-S-086
Zucker M, Zivelin A, Teitel J et al. (2007b) Facor XI (FXI) is present in anti-D preparations and can induce an inhibitor to FXI in patients with severe FXI deficiency. J Thromb Haemost 5(Suppl.2): Abstract P-W-013

# 20 Kontaktfaktoren

*Th. Renné*

## Einleitung

Die 4 Plasmaproteine Faktor XII (FXII, Hageman-Faktor), Plasmakallikrein (PK, Fletcher-Faktor), »high molecular weight kininogen« (HK, Williams-Fitzgerald-Flaujeac-Faktor) und C1-Esteraseinhibitor (C1Inh) bilden beim Menschen das Kontaktphasensystem. Der Kontakt zu negativ geladenen Oberflächen führt zu einer Konformationsänderung und Aktivierung des FXII. Aktiver FXII kann seine Substrate PK oder FXI proteolytisch aktivieren. Aktives PK führt auf Zelloberflächen zur Freisetzung des Entzündungsmediators Bradykinin aus seiner inaktiven Vorstufe HK. Alternativ startet FXII über FXI und FIX die intrinsische (endogene) Blutgerinnungskaskade, was zur Thrombinbildung führt. Die enzymatische Aktivität der beiden Serinproteasen FXII und PK wird durch das Serpin C1Inh reguliert. Funktionell sind die Kontaktfaktoren und ihre Kaskadensysteme an der Fibrinbildung durch die intrinsische Blutgerinnungskaskade, an der Fibrinolyse, an der Infektabwehr im Rahmen des Komplementsystems und an der lokalen Regulation von Permeabilität und Tonus in den Gefäßen beteiligt.

## 20.1 Biochemie der Kontaktphasenproteine

Faktor XII (FXII) wird durch Kontakt zu negativen Oberflächen aktiviert und kann dann proteolytisch 2 Proteasenkaskadensysteme aktivieren. Die Serinproteasenvorstufen Plasmaprokallikrein (PPK) und Faktor XI (FXI) sind jeweils über hochmolekulares Kininogen (HK) an Proteoglykane (PG) von Endothelzellen oder an Glykoprotein Ib (GP Ib) auf Thrombozyten gebunden. Nach proteolytischer Aktivierung setzt Plasmakallikrein aus HK das Peptidhormon Bradykinin frei. Dieser Entzündungsmediator aktiviert den cGMP/NO-Signalweg und führt durch Anstieg der endothelialen Permeabilität zur Bildung von Ödemen. Alternativ kann aktiver FXII den FXI aktivieren, was den intrinsischen Schenkel der Blutgerinnungskaskade startet und über FIX zur Bildung von Gerinnseln aus Thrombozyten und Fibrinfäden führt (Abb. 20.1).

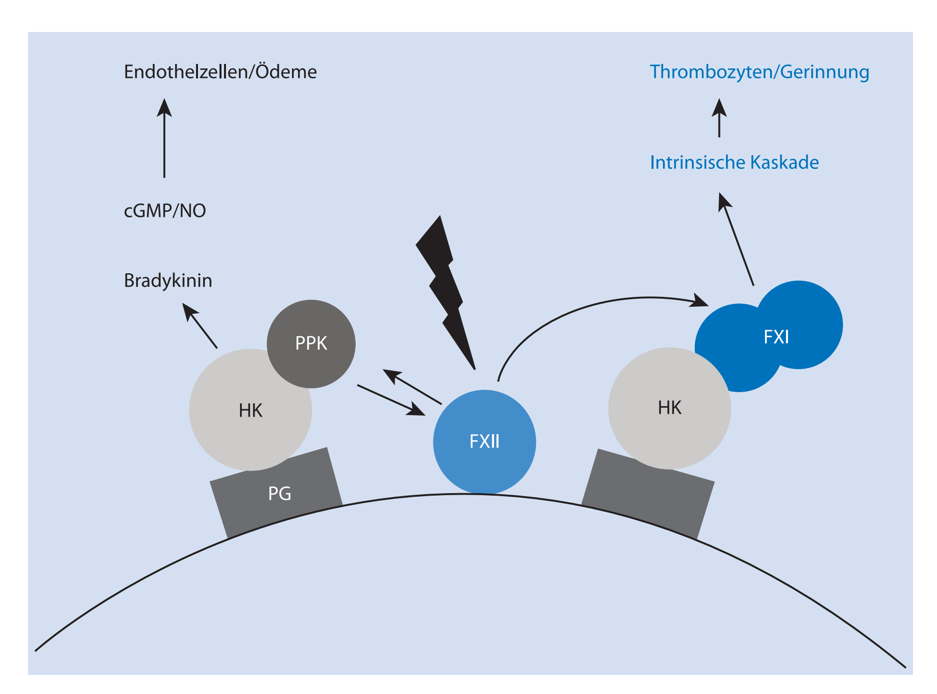


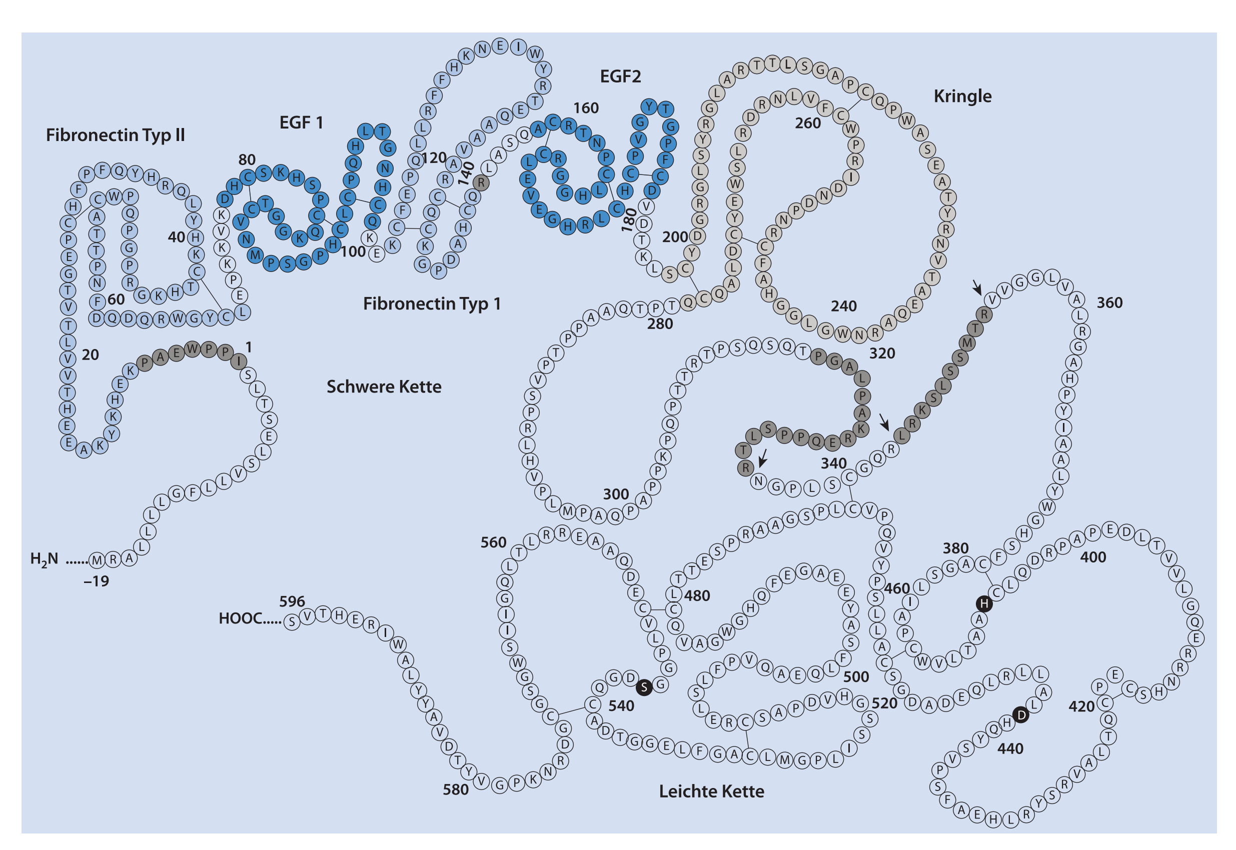

**Abb. 20.1.** Das Kontaktphasensystem. *F* Faktor; *GP* Glykoprotein; *HK* »high molecular weight kininogen«; *PG* Proteoglykane; *PKK* Plasmaprokallikrein

### 20.1.1 Faktor XII

Der Blutgerinnungsfaktor XII (FXII, Hageman-Faktor) ist eine Serinprotease der β-Globulinfraktion des Plasmas mit einem isoelektrischen Punkt (pI) zwischen 6,1 und 6,5. Die Plasmakonzentration des einkettigen Glykoproteins beträgt ca. 30 mg/l (370 µmol/l), Normalbereich 23–39 mg/l). Humaner FXII wird von einem 12 kbp großen Gen aus 13 Introns und 14 Exons auf Chromosom 5 kodiert. Die Gen- und Proteinstruktur von FXII weist Homologien zur Serinproteasen-Proteinfamilie des Gewebeplasminogenaktivators (t-PA) und des »urokinase-type« Plasminogenaktivators (u-PA) auf. Seine Messenger-RNA (mRNA) kodiert für ein Protein von 596 Aminosäuren (AS) Länge, dessen N-terminalen 19 Reste ein Signalpeptid darstellen und die Sekretion von FXII aus den proteinexprimierenden Hepatozyten bewirken.

Plasma-FXII zirkuliert als komplex glykosylierte Zymogenform mit einem Molekulargewicht von ca. 80 kDa in der Natriumdodeclylsulfat-(SDS-)Gelelektrophorese. Durch proteolytische Prozessierung wird die enzymatisch inaktive Einkettenform aktiviert und dabei in eine schwere (52 kDa) und eine leichte Kette (28 kDa) gespalten. Die leichte Kette beinhaltet die Proteasendomäne und enthält die katalytische Triade einer Serinprotease. Im Gegensatz dazu vermittelt die schwere Kette die Aktivierung des Zymogens und Protein-Protein-Interaktionen. Die schwere Kette des FXII besitzt 2 Domänen mit Homologie zum epidermalen Wachstumsfaktor (»epidermal growth factor«, EGF; EGF1: AS98-131, EGF2: AS177-210), 2 Domänen mit Homologie zum Fibronektin-Typ (Typ I: AS134-171, Typ II: AS27-90), eine Kringledomäne (AS216-297) sowie 1 prolinreiche Region (AS311-353; Cool u. MacGillivray 1987). ◻ Abb. 20.2 zeigt die Domänenstruktur von FXII.

Die schwere Kette enthält 2 Bindungsstellen für negativ geladene Oberflächen: eine am aminoterminalen Ende und eine in der Fibronektin-Typ-I-Domäne. Versuche mit rekombinanten Deletionsmutanten des FXII gaben auch Hinweise auf eine Beteiligung im Bereich des C-Terminus der schweren Kette bei der Bindung an Oberflächen. Über diese Interaktionsstellen kann FXII an Oberflächen binden und aktiviert werden. Für die Aktivierung sind Zinkionen notwendig, die durch Histidine im N-Terminus des Proteins komplexiert werden und die aktivierte Proteasenform stabilisieren.



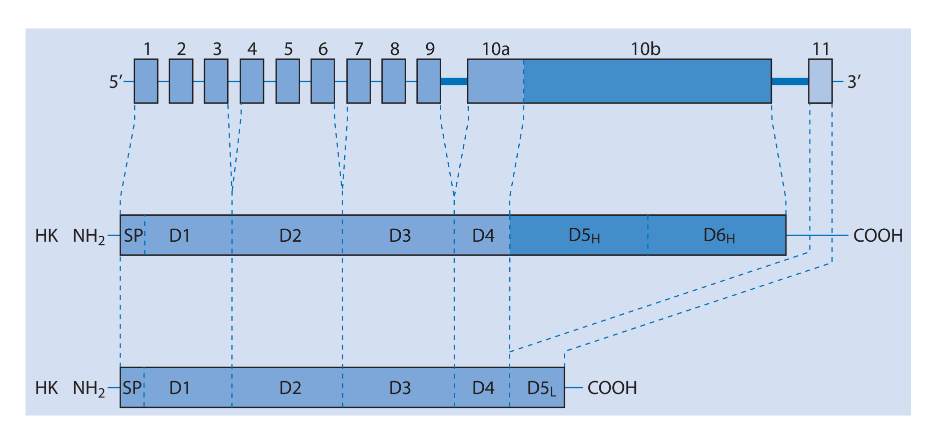

◻ **Abb. 20.2.** Domänenstruktur von FXII. Domänen vom Fibronektin-Typ I und II (*hellblau*), EGF1- und 2- Domänen (*dunkelblau*) und die Kringledomäne (*hellgrau*). Durch limitierte Proteolyse an den mit *Pfeilen* markierten Peptidbindungen entsteht aktiver FXII aus der inaktiven Einkettenform. Die Aminosäuren der katalytischen Serinproteasentriade auf der leichten Kette, Histidin (AS393), Asparaginsäure (AS442) und Serin (AS544), sind *dunkelgrau* gekennzeichnet. *EGF* »epidermal growth factor«

### 20.1.2 Kininogen

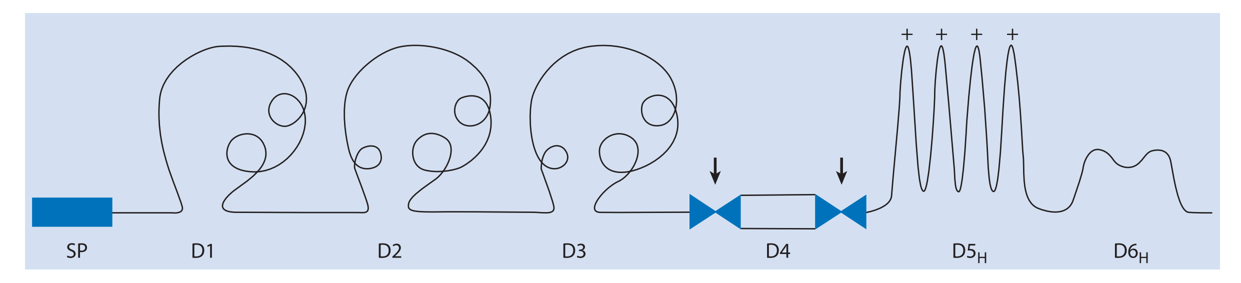
Die beiden Kininogene des Menschen (HK und »low molecular weight kininogen«, LK) werden von einem einzigen Gen auf Chromosom 3 aus 11 Exons und 10 Introns kodiert. Durch differenzielles Splicing (▣ Abb. 20.3) entstehen die für HK und LK kodierenden mRNA im Verhältnis von 1:3. Beide mRNA sind identisch in den von Exon 1–9 und dem vom 5'-terminalen Anteil des Exons 10 kodierten Bereich (Exon 10a). Dieses Exon 10a beinhaltet die Information für das Kininhormon und 12 weitere Aminosäuren. Exon 10b kodiert die leichte Kette des HK mit den Domänen $D5_H$ und $D6_H$. Die kurze leichte Kette (LK) wird von Exon 11 kodiert (Kitamura et al. 1983).

Nach Abspaltung des 18 Reste langen Signalpeptids werden HK und LK hauptsächlich von Hepatozyten sekretiert. Weitere Syntheseorte sind Thrombozyten, Endothelzellen, Tubulusepithelzellen der Niere und glatte Muskelzellen. Die beiden Kininogene zirkulieren im Plasma als 409 bzw. 626 AS große, einkettige Glykoproteine (3 N-Glykosylierungsstellen in der gemeinsamen schweren Kette und 9 O-Glykosylierungsstellen in der HK-spezifischen leichten Kette), die in der Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamidgelelektrophorese (SDS-PAGE) unter reduzierenden Bedingungen mit 66 bzw. 120 kDa migrieren. Die Plasmakonzentration von LK liegt bei 90 mg/l (1,3 µmol/l), und das Protein gehört mit einem isoelektrischen Punkt von 4,7 zur β-Globulin-Fraktion. Die HK-Konzentration liegt mit 80 mg/ml (0,67 µmol/l) niedriger und das Protein migriert in der α-Globulin Fraktion (pI 4,3). Kininogene sind typische Multidomänenproteine (▣ Abb. 20.4). HK lässt sich in eine schwere und eine leichte Kette unterteilen, die über das Kininsegment in Domäne D4 miteinander verbunden sind.

Kininogene sind klassische multifunktionale Plasmaproteine mit einem komplexen Multidomänenaufbau. Die schwere Kette (358 AS) besteht aus 3 zystatinähnlichen Domänen, D1-D3. Die leichte Kette von HK mit 243 AS wird hauptsächlich von 2 Domänen gebildet, die beide spezifische Funktionen bei der Kontaktphasenaktivierung wahrnehmen. Domäne $D5_H$ ist durch zahlreiche Lysin-, Glycin- und besonders Histidinreste gekennzeichnet, die in zahlreichen Histidin-Glycin-Motiven repetitiv aufeinanderfolgen und eine positive Partialladung dieser Domäne bedingen. Die Ladung ist verantwortlich für die Bindung




▣ **Abb. 20.3.** Gen- und Proteinorganisation der Kininogene. Die HK und LK gemeinsame schwere Kette (Domänen D1-D3) und die Kininhormonsequenz werden von Exons 1-10a kodiert. Exon 10b beinhaltet die Information für die HK-spezifische leichte Kette (Domänen $D5_H$, $D6_H$). Die leichte Kette von LK wird durch Exon 11 kodiert. Die beiden Genprodukte HK und LK entstehen durch differenzielles Splicing. *D* Domäne *HK* »high molecular weight kininogen« *LK* »low molecular weight kininogen«




▣ **Abb. 20.4.** Schematisierte Domänenstruktur von H-Kininogen. *SP* Signalpeptid *D1, D2, D3* Domänen der schweren Kette *D4* Domäne D4 mit der Kininsequenz *$D5_H$* histidinreiche Domäne D5 der leichten Kette mit der Zellbindungsstelle *$D6_H$* Domäne D6 der leichten Kette von HK mit der PK/FXI-Bindungsstelle *Pfeile* Bradykinin freisetzende Spaltstellen in Domäne D4

von HK an negativ geladene Oberflächen. Dieser histidinreiche Bereich und Domäne D3 vermitteln die Bindung von HK an Zellen.

In Blutgefäßen bindet HK hauptsächlich an Heparan- und Chondroitinsulfatproteoglykane auf den Oberflächen von Endothelzellen. Die Bindung an Proteoglykanen vermittelt die lokale Anreicherung von Kontaktphasenproteinen an eine Vielzahl von Zellen und ist außerdem für die Regulation der Bradykininfreisetzung wichtig (Renné et al. 2005b). Domäne $D5_H$ ist durch eine kurze »Spacersequenz« mit 7 Kohlenhydratseitenketten von Domäne $D6_H$ getrennt. Im carboxyterminalen Teil von $D6_H$ wurde die Bindungsstelle für Präkallikrein auf einem 27 AS langen Segment lokalisiert. Dieses überlappt mit der auf 58 AS kartierten Bindungsstelle von FXI, sodass HK binäre Komplexe mit jeweils nur einem von diesen beiden Plasmaproteinen eingehen kann. Die Interaktionen von HK mit den beiden Proteasen sind hochaffin mit Dissoziationskonstanten von 12 bzw. 18 nmol/l für PK und FXI, und auch im Plasma liegen die Proteine überwiegend als Komplexe vor.

Zusammenfassend hat HK 2 prinzipielle Funktionen: Es vermittelt die lokale Assemblierung der Kontaktphasenproteine auf Zelloberflächen und stellt die hormonell inaktive hochmolekulare Vorstufe des Peptidhormons Bradykinin dar.

### 20.1.3 Plasmakallikrein

Plasmakallikrein stellt die wichtigste bradykininfreisetzende Protease dar, es wird beim Menschen von einem Gen von 22 kbp auf Chromosom 4 kodiert. Hepatozyten sind der primäre Ort der Proteinsynthese und nach Abspaltung eines 19 Reste langen Signalpeptids wird Plasmakallikrein bereits als Komplex mit HK ins Plasma sekretiert. Die Serinprotease liegt in ihrer inaktiven Vorstufe (PPK) als einkettiges Glykoprotein vor und migriert unter reduzierenden Bedingungen in der SDS-Gelelektrophorese als Doublett mit einem Molekulargewicht von 85 und 88 kDa, die sich in ihrem Glykosylierungsgrad unterscheiden. Die Plasmakonzentration beträgt 35–50 mg/l (41–56 µmol/l), hiervon ist 75% an HK gebunden und 25% zirkuliert frei. Das Protein gehört mit einem pI von 8,5–9,0 zur γ-Globulinfraktion.

Aktiver FXII kann auf Zelloberflächen an HK gebundenes PPK durch limitierte Proteolyse aktivieren. Hierbei wird eine einzelne Peptidbindung (Arg371-Ile372) gespalten, und es resultieren eine schwere (371 Reste) und eine leichte (248 Reste) Polypeptidkette, die durch eine Disulfidbrücke kovalent miteinander verknüpft bleiben. Diese Zweikettenform ist die aktive Proteasenform und wird als α-PK bezeichnet. Durch die proteolytische Prozessierung wird eine Konformationsänderung hervorgerufen, wodurch das aktive Zentrum einer Serinprotease in der leichten Kette entsteht. In einem Verstärkerzyklus aktiviert dann PK weitere FXII-Moleküle (Colman u. Schmaier 1997). Diese initiale Verstärkung scheint notwendig zu sein, um eine ausreichende FXII-Aktivität zu generieren. Bei längerer Inkubation kann sich die α-PK-Form in der schweren Kette selbst verdauen, wodurch die β-PK-Form entsteht. Der Schnitt an Position Lys140-Ala141 in der schweren Kette führt zur Dreikettenform, bei der die 3 Fragmente noch durch 2 Disulfidbrücken verbunden sind. Die β-PK-Form hat eine vergleichbare enzymatische Aktivität wie α-PK, bindet aber nicht mehr an HK. Die physiologische Funktion von β-PK ist nicht abschließend geklärt.

Aktives PK hat nicht nur HK als Substrat, sondern aktiviert durch die Umsetzung von Prorenin zu Renin auch das Renin-Angiotensin-System und dient somit als Gegengewicht zur vasodilatativen Funktion der Bradykininfreisetzung. Weiterhin vermag Kallikrein durch die Umsetzung von Prourokinase zu Urokinase in vitro auch das fibrinolytische System zu starten. Inwieweit und unter welchen Bedingungen diese Funktionen des PK in vivo relevant sind, ist bislang unbekannt. Menschen mit kompletter Defizienz dieses Kontaktphasenfaktors haben keine auffällige Thrombose- oder Blutungsneigung sowie einen normalen Blutdruck.

PK (Chung et al. 1986) und FXI (Fujikawa et al. 1986) weisen auf Aminosäureebene eine 58%ige Identität auf, worauf sich strukturelle und funktionelle Übereinstimmungen begründen. Beide Plasmaproteine bestehen aus 5 Domänen. Die Domänen A1 bis A4 weisen eine charakteristische repetitive Disulfidbrückenstruktur auf und werden als Apple-Domänen bezeichnet. Gemeinsam bilden sie die schwere Kette des Kallikreins (50 kDa). Beim Menschen sind PK und FXI die beiden einzigen Proteine mit Apple-Domänen. Beide stammen von einem gemeinsamen Vorläufer ab. Im Verlauf der Evolution sind durch Genduplikation aus einer einzelnen Apple-Domäne erst 2, dann 4 entstanden. Strukturell kann FXI als Homodimer mit einem doppelten Satz á 4 Apple-Domänen aufgefasst werden; hierbei sind die 2 PK-homologen Untereinheiten durch eine Disulfidbrücke zwischen den beiden A4-Domänen verknüpft. Die carboxyterminalen 5. Domänen dieser beiden Plasmaserinproteasen beinhalten die katalytischen Triaden und bilden die leichten Ketten mit jeweils 35 kDa. Die Tertiärstrukturen von PPK und FXI sind in Abb. 20.5 schematisch dargestellt.

Von aus Plasma aufgereinigtem FXI konnte die Raumstruktur des kompletten dimeren Moleküls mittels Röntgenstrukturanalyse kürzlich aufgeklärt werden (Papagrigoriou et al. 2006). Die experimentelle Strukturaufklärung von PK steht noch aus, jedoch konnte aufbauend auf der FXI-Struktur eine Raumstruktur modelliert werden. Die hohe Homologie der beiden Proteine reflektierend, ent-

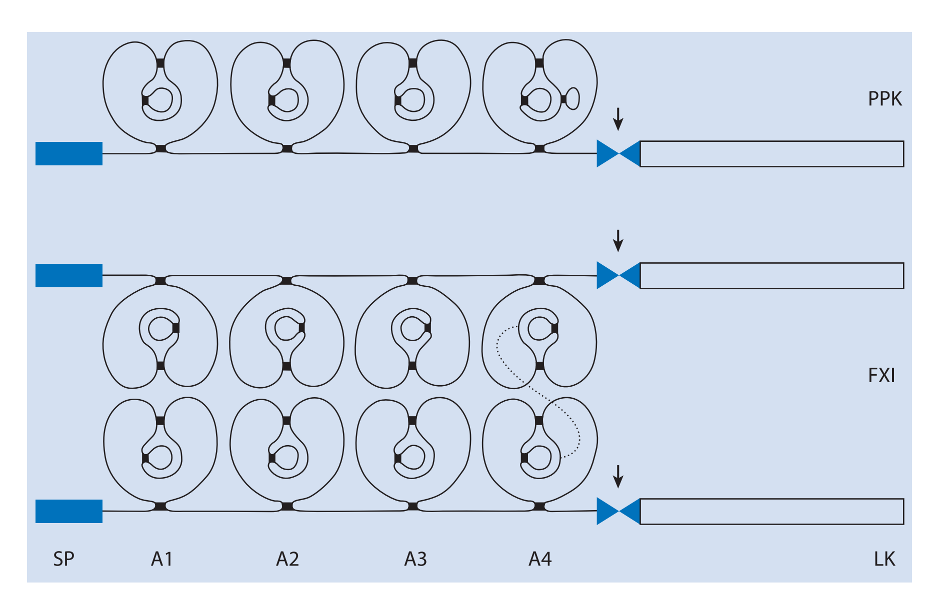



**Abb. 20.5.** Domänenstruktur von Plasmapräkallikrein und Faktor XI. Die *Pfeile* geben die Spaltstellen von Faktor XIIa an. Proteolyse an diesen Positionen aktiviert Plasmapräkallikrein zu α-Kallikrein und FXI zu FXIa. *Gepunktete Linie* Disulfidbrücke zwischen den beiden Apple-Domänen A4 in Faktor XI *SP* Signalpeptid *A1, A2, A3, A4* Apple-Domänen der schweren Ketten *LK* leichte Ketten, die die 5. Domäne bilden

spricht die Anordnung der 4 Apple-Domänen im PK derjenigen im FXI. Diese 4 Apple-Domänen bilden eine Oberfläche aus, an die HK über ein Segment im extremen C-Terminus des Proteins spezifisch und mit hoher Affinität bindet. Apple-Domäne 2 ist am wichtigsten für die HK-Bindung, und Anteile der Apple-Domänen 1 und 4 komplettieren die diskontinuierliche Bindungsstelle. Im Gegensatz zu α-PK und Plasmapräkallikrein bindet die β-PKa-Form nicht mehr an HK, was die Bedeutung der Apple-Domäne 2 für die Komplexbildung mit HK unterstreicht. Die HK-Bindungsstellen von PK und FXI sind sehr ähnlich. Auch beim Faktor XI beinhaltet die 2. Apple-Domäne die wichtigste HK-Bindesequenz. Im Gegensatz zu PK wird der Gerinnungsfaktor jedoch nicht in Domäne 2 geschnitten, sodass eine der β-PKa homologe Form für FXI nicht existiert.

### 20.1.4 Kinine

Die Kinin generierende Kaskade mündet in der Freisetzung des vasoaktiven Entzündungsmediators Bradykinin (BK). BK ist ein Peptidhormon aus 9 Resten (im Einbuchstabenaminosäurenkode: RPPGFSPFR). Die Plasmahalbwertszeit von Bradykinin ist extrem kurz (<30 s), da es durch ubiquitäre Kininasen, wie Carboxypeptidase N oder das »Angiotensin converting enzyme« (ACE), proteolytisch degradiert wird. Die zur Butdrucksenkung eingesetzte Gruppe der ACE-Inhibitoren blockieren den Abbau des Bradykinins und bewirken so eine längere Plasmahalbwertszeit des Vasodilatators. Außerden inhibieren ACE-Inhibitoren die Bildung des Vasokonstriktors Angiotensin II aus Angiotensin I. Zusammen senkt dieser Synergismus den Blutdruck ab.

Wegen der kurzen Lebensdauer ist es für eine effiziente biologische Wirkung wichtig, dass Bradykinin durch Plasmakallikreinwirkung in der Nähe seiner Rezeptoren auf Endothelzellen freigesetzt wird. Bradykinin ist der Ligand des siebentransmembranen Kinin-B2-Rezeptors (B2R), der ubiquitär exprimiert wird. Vom Bradykinin kann durch Carboxypeptidasen die N-terminale Aminosäure abgespalten werden, wodurch des-Arg9-Bradykinin entsteht (ein Oktapeptid). Dieses Peptid aktiviert den Kinin-B1-Rezeptor (B1R). Beide Kininrezeptoren gehören zur Klasse der G-Protein-($G\alpha_q$-/$G\alpha_i$-)gekoppelten siebentransmembranen Rezeptoren. Ligandenbindung an B2R aktiviert eine Vielzahl intrazellulärer Signalwege, wie z. B. eine Erhöhung des Kalziumspiegels über den Phospholipase-C-Inositol-3-Phosphat-Signalweg, Stimulation der Proteinkinase C und Phospholipasen sowie die GTPase RhoA. Über nachgeschaltete Botenstoffe wie zyklisches Guanosinmonophosphat (cGMP), zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP), Stickstoffmonoxid (NO) und Archachidonsäure sowie durch »Cross-talk« mit anderen vaskulären Signalsystemen wie dem Renin-Angiotensin-System vermitteln Kinine ihre (patho-)physiologischen Funktionen. Im vaskulären System stellen Kinine nicht nur lokal Gefäße weit und senken so den Blutdruck, sondern sie wirken auch chemotaktisch, sind kardioprotektiv und induzieren die Bildung von Ödemen duch Erhöhung der endothelialen Permeabilität.

Trotz ähnlicher Signaltransduktionsmechanismen unterscheiden sich B1R und B2R. Der B2R ist konstitutiv exprimiert, während die Expression des B1R primär bei Entzündungen und unter Ischämie durch Interleukin-1β induziert wird. Daher sind B1R-vermittelte Signaltransduktionskaskaden und Effekte in geschädigten Gefäßen, weniger jedoch unter physiologischen Bedingungen wichtig (Leeb-Lundberg et al. 2005). Beide Kininrezeptoren wurden bereits bei Mäusen aus dem Genom deletiert. Die rezeptordefizienten Tiere sind phänotypisch gesund und fertil. B1R-null Tiere sind in lipopolysaccharidinduzierten und bakteriellen Sepsismodellen geschützt. Nach Ischämie von Darmgefäßen ist bei diesen Tieren außerdem die Infiltration von Leukozyten in geschädigtes Gewebe signifikant reduziert. Im Gegensatz dazu zeigen B2R-defiziente Mäuse einen salzsensitiven Bluthochdruck und ein abgeschwächtes Schmerzempfinden.

## 20.2 Kontaktphasenaktivierung

FXII, HK und PK bilden die Kontaktphasenproteine, da diese Proteasenkaskade durch »Kontakt« zu Oberflächen aktiviert wird, die unter physiologischen Bedingungen nicht mit Blut in Kontakt kommen. Durch diese Bindung an negativ geladene Oberflächen (z. B. Kaolin, Glas oder Dextransulfat) wird FXII aktiviert (FXIIa). Die Bindung führt zu einer Konformationsänderung und Spaltung (Autoaktivierung, AS: 353-354) des Proteins in die schwere und die leichte Kette, die aber noch durch eine Disulfidbrücke (AS: Cys340, Cys466) verbunden bleiben. Diese Form des aktivierten FXII nennt man α-FXIIa. Das aktivierte FXII-Molekül zeigt amidolytische und esterolytische Aktivität und ist eine typische Serinprotease. Das katalytische Zentrum in Form einer katalytischen Triade (AS: His393, Asp442, Ser544) befindet sich auf der leichten Kette, die durch Kallikrein in 2 weiteren Proteolyseschritten (AS: 334-335, 343-344) komplett von der schweren Kette abgespalten wird. Die Spaltung des FXII erfolgt in 3 Teilschritten. Die abgespaltene leichte Kette des FXII sowie ein weiteres entstandenes 2 kDa großes Fragment werden als β-FXIIa oder auch FXIIf (fragment) bezeichnet.

Als Kofaktor für die Aktivierung von FXII spielen $Zn^{2+}$-Ionen eine Rolle. In Gegenwart von $Zn^{2+}$-Ionen kommt es durch Dextransulfat zu einem signifikanten Anstieg der Reaktionsrate bei der Aktivierung von FXII. Aktiver FXII (FXIIa) kann dann in seiner Nachbarschaft auf Zelloberflächen Plasmapräkallikrein proteolytisch aktivieren. Aktives Plasmakallikrein setzt neue FXII-Zymogene um, sodass durch diesen Verstärkungsmechanismus nach initialer Kontaktaktivierung von wenigen FXII-Proteinen explosionsartig FXII-Aktivität auf Oberflächen generiert wird.

## 20.3 Defizienzen an Kontaktphasenproteinen

Die Aktivierung des Kontaktphasesystems und damit der intrinsischen Gerinnungskaskade durch Kaolin wird klinisch eingesetzt und bildet die Basis eines wichtigen Gerinnungstests, der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (APTT). Defizienz an HK, PK oder FXII führt zu einer pathologischen Verlängerung der APTT. Bei kompletter FXII-Defizienz ist das Patientenplasma bei den in der Klinik verwendeten automatisierten Gerinnungsanalysen oder im Kugelkoagulometer nicht mehr gerinnbar. C1Inh-Defizienz hingegen hat keinen Einfluss auf die APTT. Ganz im Gegensatz zu der massiv verlängerten APTT steigert aber selbst die komplette Defizienz an PK, HK oder FXII nicht die Blutungsneigung. Menschen, denen Kontaktfaktoren fehlen, bluten weder spontan noch bei Verletzungen vermehrt (Ratnoff u. Colopy 1955).

Häufig fallen Defekte der Kontaktphasenfaktoren bei präoperativen Rountineuntersuchungen eher zufällig durch die APTT-Verlängerung auf. Der Quick-Wert (Prothrombinzeit) als Test für die extrinsische Gerinnungskaskade ist in Abwesenheit von Kontaktphasenfaktoren unauffällig und nicht verlängert, da spezifisch nur die intrinsische Blutgerinnungskaskade gestört ist. Differenzialdiagnostisch sind bei einer solitären APTT-Verlängerung Lupusantikoagulanzien oder Heparinapplikation zu berücksichtigen, beide verlängern auch primär die APTT und haben z. T. wenig Einfluss auf die Prothrombinzeit. Im Gegensatz zum Mangel an Kontaktphasenproteinen sind Lupusantikoagulanzien jedoch klare thrombophile Risikofaktoren (im Einzelfall auch mit Blutungsneigung assoziiert).

Die Inzidenz einer schweren FXII-Defizienz (FXII-Spiegel <1%) ist selten und nicht genau bekannt. Defizienz an HK oder PK ist noch weitaus seltener. Daher sollte bei klinischen Gerinnungsanalysen zur Abklärung einer unklaren APTT-Verlängerung ohne Blutungs- oder Thromboseneigung primär der FXII-Plasmaspiegel bestimmt werden. Die Defizienz an FXII wird vererbt, wobei sowohl autosomal dominante als auch rezessive Formen beschrieben sind.

Basierend auf dem Fall des ersten beschriebenen Patienten mit kompletter FXII Defizienz, John Hageman, der an einer Lungenembolie verstarb, wurde die FXII-Defizienz lange Zeit als prothrombotischer Risikofaktor angesehen. Zwar sind einzelne Fallbeschreibungen bekannt, in denen Menschen mit defekten Kontaktfaktoren eine vermehrte Thrombophilie zeigen, jedoch konnten große klinische kontrollierte Studien in der Schweiz und den Niederlande eindeutig nachweisen, dass die Defizienz an FXII nicht mit einem erhöhten Thromboserisiko assoziiert ist (Zeerleder et al. 1999). Häufig konnten bei den Patienten mit FXII-Mangel weitere Thromboserisikofaktoren, z. B. Schwangerschaft, Trauma oder eine heterozygote Faktor-V-Leiden-

Mutation identifiziert werden, die unabhängig von FXII die Thomboseneigung erklären können. Paradebeispiel hierfür ist John Hageman. Seine Lungenembolie trat nach Oberschenkeltrauma und Immobilisierung auf.

Aufgrund der geringen Fallzahl existieren keine kontrollierten Studien zur Assoziation von HK- oder PK-Mangelzuständen mit hämostaseologischen Krankheiten. Einzelreportagen legen nahe, dass analog zu FXII, HK und PK defiziente Individuen klinisch unauffällig sind. Nur bei FXI sind Mangelzustände mit einer Blutungsneigung assoziiert. Etwa die Hälfte aller Patienten mit FXI-Mangel zeigt einen milden Blutungsphänotyp (Hämophilie C). Bisher ist unklar, weshalb FXI-Defizienz selbst bei Plasmaspiegeln <1% klinisch unauffällig sein kann, wohingegen auch Patienten mit ca. 50% FXI-Plasmaspiegel Blutungsneigungen primär in Organen mit hoher fibrinolytischen Aktivität zeigen und ein erhöhtes hämorrhagisches Risiko haben können.

Im Gegensatz zu den Kontaktphasenproteasen und dem Kofaktor HK verursachen Defekte oder Defizienzen an C1Inh z. T. lebensbedrohliche Schwellungsneigungen, sogenannte hereditäre Angioödeme (HAE). Bei Patienten mit HAE Typ I fehlt C1Inh im Plasma. Der Typ II ist durch ein dysfunktionales Protein charakterisiert. Der Ödemneigung liegt eine überschießende Bradykininwirkung zugrunde, die durch eine gesteigerte Kontaktsystemaktivität bedingt ist. Therapeutisch werden plasmatische C1Inh-Konzentrate, PK-Inhibitoren (DX-88) oder Bradykinin-B2-Rezeptorantagonisten (Icatibant, HOE140) eingesetzt.

Kürzlich konnte eine C1Inh-unabhängige Form des HAE charakterisiert werden. Betroffene Patienten leiden unter gleichen Schwellungsepisoden, jedoch ist ihr C1Inh funktionell unauffällig und der Plasmaspiegel normwertig. Durch genetische Kopplungsanalysen konnte der neue HAE Typ III mit einer einzigen Punktmutation im FXII-Gen assoziiert werden. Diese Mutation führt zum Austausch einer einzigen Aminosäure (Thr328Arg) auf Proteinebene, woduch die proteolytische Aktivität des FXII gesteigert wird (Cichon et al. 2006). Der exakte Pathomechanismus und die Therapie des HAE Typ III ist aktuell noch nicht bekannt.

## 20.4 Funktion der Kontaktphasenproteine bei der Thrombusbildung

Im Gegensatz zur Bradykininwirkung, die bei einer Vielzahl von bakteriellen Entzündungsprozessen eine wichtige Funktion einnimmt (Herwald et al. 1998), geht man aktuell davon aus, dass das FXII-initiierte Kontaktphasensystem keine Bedeutung für die Hämostase (Blutstillung bei Verletzungen) und somit für die Fibrinbildung hat. In vivo wird die Blutstillung primär durch die extrinsische (»vom Gefäß ausgehende«) Gerinnungskaskade vermittelt, die durch Exposition des Tissue Factors (TF, Gewebethrombokinase) auf subendothelialen Oberflächen mit nachfolgender Bildung des FVII-TF-Komplexes gestartet wird. Das Überwiegen der extrinsischen Gerinnungskaskade erklärt, dass die (hereditäre) Defizienz von FXII weder mit einer erhöhten Blutungsneigung noch mit einer vermehrten Thromboseneigung assoziiert ist (Ratnoff u. Colopy 1955).

In den letzten Jahren wurden FXII-defiziente ($FXII^{-/-}$) Mäuse generiert und in Thrombosemodellen in vivo phänotypisiert (Renné et al. 2005a). Überraschenderweise und entgegen der bisherigen Lehrmeinung zeigen $FXII^{-/-}$-Mäuse einen schweren Defekt bei der Thrombusbildung. Nach mechanischer oder chemischer Schädigung von Gefäßen ($FeCl_3$, Aortenkompression) bilden sich bei $FXII^{-/-}$-Mäusen sowohl im arteriellen als auch im venösen System keine ins Gefäßlumen hineinwachsenden und schließlich gefäßokklusiven Thromben aus. Trotz dieses Defekts bei der Thrombusbildung ist die Blutstillung jedoch nicht beeinträchtigt, d. h. $FXII^{-/-}$-Mäuse bluten nach Verletzungen nicht stärker als Wildtypkontrolltiere, was sich in gleichen Blutungszeiten dokumentiert.

Ebenso zeigen FXI-defiziente Mäuse einen Defekt bei der Thrombusbildung. In Modellen für ischämischen Schlaganfall sind $FXII^{-/-}$- und $FXI^{-/-}$-Mäuse in erheblichem Umfang geschützt, ohne dass sie vermehrt intrazerebral einbluten (Kleinschnitz et al. 2006). Mechanistisch liegt auch hier ein Defekt der pathologischen Fibrinbildung in ischämischen Gefäßen vor. Analog führt auch die Defizienz von Kininogen in genetisch veränderten Mausmodellen zu defekter Thrombusbildung, und kininogendefiziente Tiere sind in ganz erheblichem Umfang vor gefäßokklusiver Thrombose in Arterien geschützt.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die FXII-initiierte Kontaktreaktion eine zentrale Bedeutung im Prozess der pathologischen Thrombusbildung einnimmt. Wie in Abb. 20.6 schematisch dargestellt, ist die kontaktphasengetriebene Thrombinbildung notwendig, um zusätzliches Fibrin zu generieren, sodass sich stabile dreidimensionale Thromben in Gefäßen ausbilden können. Wie und durch was FXII auf aktivierten Thrombozyten aktiviert wird, ist bislang nicht abschließend geklärt.

Daraus folgt, dass das Kontaktsystem eine ideale Zielstruktur darstellt, um die Thrombusbildung z. B. bei Infarkt und Schlaganfall therapeutisch zu modulieren, ohne dass diese Thromboseprophylaxe mit einer erhöhten Blutungsneigung erkauft wird, was bei bisherigen Antikoagulanzien (Heparin, Cumarine) der Fall ist.

In der Konsequenz stellen diese Ergebnisse mit Mäusen mit defekten Kontaktphasenproteinen ein zentrales Dogma der Blutgerinnung infrage. Bisher wurden Thrombose- und Blutungsneigung als die beiden entgegengesetzten Pole der Hämostase angesehen. Ungleichgewichte dieser Balance sind pathologisch und drücken sich entweder in Blutungen

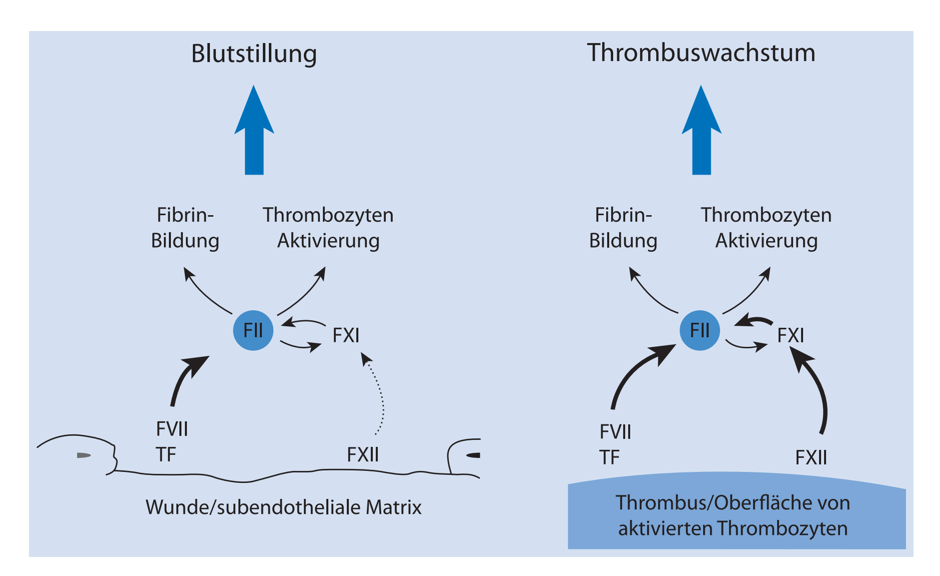



**Abb. 20.6.** Die Funktion des Faktors XII bei der Thrombusbildung. Die Blutstillung nach Gefäßverletzungen wird durch den Komplex aus Tissue Factor (TF) und FVII (»extrinsische Gerinnungskaskade«) gestartet, der auf Zelloberflächen im Bereich der Wunde exponiert wird. Dies führt zur Bildung von Thrombin (FII), das Thrombozyten aktiviert und Fibringerinnsel generiert. Bei der Blutstillung hat die über FXII und FXI verlaufende »intrinsische Gerinnungskaskade« keine Bedeutung. Für die Thrombusentwicklung ist die von FXII angetriebene intrinsische Gerinnungskaskade auf Thrombozytenoberflächen notwendig. Fehlt FXII oder FXI, bilden sich keine gefäßokklusiven Thromben mehr aus, ohne dass die Blutstillung betroffen ist

oder Thrombosen aus. Für die Defizienz an Kontaktphasenproteinen scheint dieses Grundprinzip der Hämostase nicht zuzutreffen. Obwohl die Thrombusbildung defekt ist, ist die Blutungsneigung nicht erhöht. Ob sich dieser mechanistische Unterschied zwischen physiologischer Hämostase und pathologischer Thrombusbildung auch bei größeren Säugetieren und beim Menschen bewahrheitet, ist Gegenstand aktueller Forschung.

Erste Studien mit Patienten zeigen, dass die schwere FXI-Defizienz bei über 150 Patienten in Israel vor ischämischem Schlaganfall schützt (Salomon et al. 2008). Aufgrund der geringen Inzidenz von Kontaktphasenfaktorendefizienzen sind die Fallzahlen in solchen Studien jedoch limitiert. Die Proteasen des Kontaktsystems treten evolutionär erst bei Säugetieren auf, und Homologe sind z. B. bei Fischen oder Vögeln nicht vorhanden, obwohl auch diese Spezies über geschlossene Blutkreisläufe verfügen. Daraus leitete sich die Hypothese ab, dass die Funktion des Kontaktsystems vielleicht nicht primär im Bereich der Hämostase liegt, sondern anderen, bisher nicht entschlüsselten Aufgaben dient (Gailani u. Renné 2007).

## Literatur

Chung D, Fujikawa K, McMullen B et al. (1986) Human plasma prekallikrein, a zymogen to a serine protease that contains four tandem repeats. Biochemistry 25: 2410–2417

Cichon S, Martin L, Hennies HC et al. (2006) Increased activity of coagulation factor XII (Hageman Factor) dauses hereditary angioedema type III. Am J Hum Genet 79: 1098–1104

Colman RW, Schmaier AH (1997) Contact system: a vascular biology modulator with anticoagulant, profibrinolytic, antiadhesive, and proinflammatory attributes. Blood 90: 3819–3843

Cool D, MacGillivray RT (1987) Characterization of the human blood coagulation factor XII gene. Intron/exon gene organization and analysis of the 5′-flanking region. J Biol Chem 262: 13662–13673

Fujikawa K, Chung D, Hendrickson L et al. (1986) Amino acid sequence of human factor XI, a blood coagulation factor with four tandem repeats that are highly homologous with plasma prekallikrein. Biochemistry 25: 2417–2424

Gailani D, Broze GJ Jr (1991) Factor XI activation in a revised model of blood coagulation. Science 253: 909–912

Gailani D, Renné T (2007) The intrinsic pathway of coagulation: a target for treating thromboembolic disease? J Thomb Haemost 5(6): 1106–1112(7)

Herwald H, Morgelin M, Olsen A et al. (1998) Activation of the contact-phase system on bacterial surfaces – a clue to serious complications in infectious diseases. Nat Med 4: 298–302

Kitamura N, Takagaki Y, Furuto S et al. (1983) A single gene for bovine high molecular weight and low molecular weight kininogens. Nature 305: 545–549

Kleinschnitz C, Stoll G, Bendszus M et al. (2006) Targeting coagulation factor XII provides protection from pathological thrombosis in cerebral ischemia without interfering with hemostasis. J Exp Med 203: 513–518

Leeb-Lundberg LM, Marceau F, Muller-Esterl W et al. (2005) Classification of the kinin receptor family: from molecular mechanisms to pathophysiological consequences. Pharmacol Rev 5: 27–77

Papagrigoriou E, McEwan PA, Walsh PN et al. (2006) Crystal structure of the factor XI zymogen reveals a pathway for transactivation. Nat Struct Mol Biol 13: 557–558

Ratnoff OD, Colopy JE (1955) A familial hemorrhagic trait associated with a deficiency of a clot-promoting fraction of plasma. J Clin Invest 34: 602–613

Renné T, Pozgajova M, Gruner S et al. (2005a) Defective thrombus formation in mice lacking coagulation factor XII. J Exp Med 202: 271–281

Renné T, Schuh K, Muller-Esterl W (2005b) Local bradykinin formation is controlled by glycosaminoglycans. J Immunol 175: 3377–3385

Salomon O, Steinberg DM, Koren-Morag N et al. (2008) Reduced incidence of ischemic stroke in patients with severe factor XI deficiency. Blood 111: 4113–4117

Zeerleder S, Schloesser M, Redondo M et al. (1999) Reevaluation of the incidence of thromboembolic complications in congenital factor XII deficiency – a study on 73 subjects from 14 Swiss families. Thromb Haemost 82: 1240–1246

# 21 Fibrinogen und Fibrin

*B. Pötzsch, K. Madlener*

## Einleitung

Fibrin bildet die Proteinmatrix des Gerinnsels. Es wird durch Thrombin aus dem Plasmaprotein Fibrinogen gebildet. Grundbausteine des Fibrinogenmoleküls sind 3 Polypeptidketten: α-, β- und γ-Kette. Diese Fibrinogenketten werden durch 3 unterschiedliche Gene auf Chromosom 4 kodiert. Während der Fibrinogensynthese im Hepatozyten werden über N-terminale Disulfidbrücken Homodimere jeder Kette gebildet. Im Fibrinogenmolekül ist je 1 Homodimer jeder Kette so angeordnet, dass die N-terminalen Enden eine gemeinsame Molekülregion – die E-Domäne – bilden, während die beiden C-terminalen Enden die peripheren D-Domänen bilden. Thrombin spaltet die Fibrinopeptide A und B aus dem N-terminalen Bereich der α-und der β-Kette ab. Daraus resultiert eine Konformationsänderung, die eine Polymerisation der Fibrinogenmoleküle ermöglicht. Das entstehende Fibringerinnsel wird anschließend durch aktivierten Faktor XIII kovalent vernetzt. Fibrin ist ein multivalenter Ligand für eine Reihe von zellulären Rezeptoren, zu denen auch die Integrine zählen. Ein Mangel an Fibrinogen tritt seltener angeboren und häufiger erworben im Zusammenhang mit verschiedenen Grunderkrankungen auf.

## 21.1 Molekülstruktur und Biosynthese des Fibrinogens

Das Fibrinogenmolekül ist ein 340 kDa großes Glykoprotein, dessen Plasmakonzentration 150–350 mg/dl beträgt (Weisel 2005). Fibrinogen ist ein linear aufgebautes Molekül mit einer Länge von 46 nm. Das Grundgerüst des Fibrinogenmoleküls bilden 3 Polypeptidketten, die als Aα-, Bβ- und γ-Kette bezeichnet werden (Tab. 21.1). Die 3 Fibrinogenketten sind durch Disulfidbrücken im N-terminalen Bereich kovalent zu Homodimeren verknüpft. Das Fibrinogenmolekül wird von je 1 Homodimer jeder Kette gebildet. Die N-terminalen Enden der Bβ-Kette und der γ-Kette bilden die peripheren D-Domänen, während die zentrale E-Domäne von den C-terminalen Enden aller 3 Homodimere gebildet wird (Abb. 20.1).

Die N-terminalen Enden dieser Dimere bilden zusammen die zentrale E-Domäne des Fibrinogenmoleküls. Die Ketten verlassen die zentrale E-Domäne als α-helikale Strukturen, die am C-terminalen Ende die D-Domänen bilden. Die D-Domänen beinhalten die C-terminalen Enden der Bß- und der γ-Ketten, die auch als βC und γC bezeichnet werden. Das C-terminale Ende der Aα-Kette bleibt nicht in den D-Domänen lokalisiert, sondern wird über die Längsachse des Fibrinogenmoleküls in Richtung der zentralen E-Domäne zurückgeschlagen. Dort interagiert es mit dem C-terminalen Ende der kontralateralen Aα-Kette und mit der zentralen E-Domäne.

Tab. 21.1. Polypeptidketten des Fibrinogenmoleküls

| Fibrinogenkette | Aminosäureanzahl | Relative Molekularmasse |
|---|---|---|
| Aα | 610 | 66.500 |
| Bβ | 461 | 52.000 |
| γ | 411 | 46.500 |

Jede der 3 Fibrinogenketten wird von einem Gen kodiert, die zusammen den sogenannten Fibrinogencluster bilden, der etwa 50 kbp umfasst und auf Chromosom 4 in Position q22-23 lokalisiert ist. Die Transkriptionsrate aller 3 Gene ist aufeinander abgestimmt. In-vitro-Untersuchungen lassen vermuten, dass die Expression der β-Kette den für die Fibrinogensynthese limitierenden Faktor darstellt. Umgekehrt kann die Transkriptionsrate der β-Kette die Expressionsrate der anderen beiden Fibrinogenketten erhöhen (Roy et al. 1994).

Fibrinogen gehört zu den Akute-Phase-Proteinen. Dementsprechend wird die Fibrinogensynthese durch inflammatorische Prozesse und durch Behandlung mit Interleukinen (Il) oder Glukokortikoiden gesteigert. Diese gesteigerte Fibrinogensynthese wird durch eine direkte Erhöhung der Transkriptionsrate aller 3 Fibrinogengene erreicht (Otto et al. 1987). Die Fibrinogensynthese ist streng zellspezifisch und erfolgt fast ausschließlich in Hepatozyten. In sehr geringem Umfang ist auch eine Synthese durch Lungenepithelzellen möglich (Nguyen u. Simpson-Haidaris 2000). Ähnlich wie die hepatische Synthese wird auch die Fibrinogensynthese in Lungenepithelzellen durch proinflammatorische Zytokine wie Il-1β gesteigert.

## 21.2 Fibrinbildung

Die Fibrinbildung ist eine Polymerisationsreaktion, die durch Abspaltung der Fibrinopeptide A und B von den N-terminalen Enden der Aα- und Bβ-Ketten eingeleitet wird.

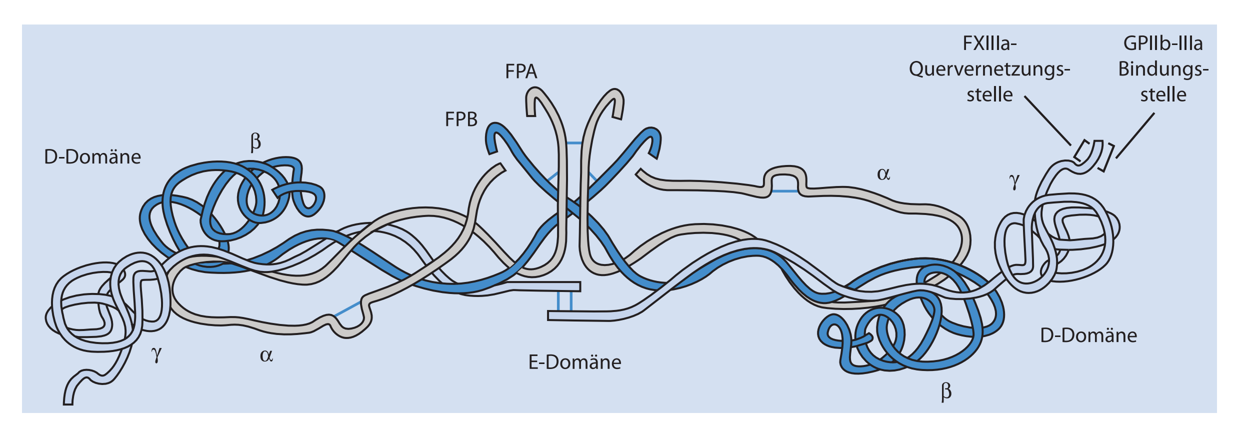



**Abb. 21.1.** Struktur des Fibrinogenmoleküls. Die als Aα-, Bβ- und γ-Kette bezeichneten Polypeptidketten liegen innerhalb des Fibrinogenmoleküls in antiparalleler Anordnung vor. Die Verknüpfungen erfolgen über Disulfidbrücken. Die in den C-terminalen Enden des Fibrinogenmoleküls liegende FXIIIa-Quervernetzungsstelle sowie die Bindungsstelle für das thrombozytäre Glykoprotein IIb-IIIa sind markiert. FPA Fibrinopeptid A; FPB Fibrinopeptid B

Durch Abspaltung der Peptidfragmente werden Polymerisationsstellen, die als A- und B-Epitope bezeichnet werden, freigelegt. Diese Polymerisationsstellen reagieren mit Molekülregionen im Bereich der C-terminalen γ- und β-Ketten weiterer Fibrinmoleküle. Dadurch entstehen A:a- und B:b-Verbindungen (Abb. 20.2). Insgesamt erfolgt der Polymerisationsprozess in 2 Schritten. Zunächst kommt es – vermittelt durch die A:a-Interaktion – zu einer lateralen Assoziation, die zur Bildung von Protofibrillen führt. Die sich anschließende B:b-Interaktion vermittelt die dreidimensionale Vernetzung der Protofibrillen untereinander.

Das entstandene Fibringerinnsel wird anschließend durch aktivierten Faktor XIII mechanisch stabilisiert, indem dieser die Bildung von kovalenten Bindungen zwischen den γ-Ketten und den α-Ketten katalysiert (Abb. 20.3). Dieser als Quervernetzung bezeichnete Prozess verleiht dem Fibringerinnsel nicht nur eine verbesserte mechanische Stabilität, sondern verhindert auch einen frühzeitigen fibrinolytischen Abbau (Lord 2007).

Die Fibrinbildung am Ort einer Gefäßverletzung wird durch die Exsudation von Fibrinogen aus benachbarten Gefäßen in das Wundgebiet verstärkt. Dieses Fibrinogen wird entweder durch lokal vorhandenes Thrombin in Fibrin umgewandelt oder als Fibrinogen in die Gerinnselmatrix eingebaut. Insbesondere bei großflächigen Hautläsionen kommt der Fibrinogenexsudation als »Fibrinogenquelle« eine wichtige Bedeutung zu (Lord 2007).

## 21.3 Fibrinogen-Zell- und Fibrinogen-Protein-Interaktionen

Fibrinogen und Fibrin sind polyvalente Liganden, die mit einer Vielzahl von unterschiedlichen Zellen und Proteinen interagieren. Die Interaktion mit Thrombozyten ist entscheidend für die Bildung eines dynamischen defektverschließenden Gerinnsels, während über die Interaktion mit den Zellen des Wundgebiets das Gerinnsel stabil verankert wird. Nachfolgend bildet die Fibrinmatrix ein strukurbildendes Element für die durch Einwanderung von Endothelzellen, glatten Muskelzellen, Keratinozyten und Fibroblasten geprägte zelluläre Reorganisation des Gerinnsels. Darüber hinaus ist Fibrin für diese Zellen ein Proliferations- und Differenzierungsfaktor.

Durch Bindung an verschiedene Proteine der extrazellulären Matrix, wie Kollagen, Fibronektin und von-Willebrand-Faktor, wird die Verankerung des Fibringerinnsels mit dem verletzten Gefäßbezirk weiter stabilisiert. Durch den Einbau von Inhibitoren wie $\alpha_2$-Antiplasmin und von Wachstumsfaktoren wird die Fibrinmatrix vor vorzeitigem proteolytischem Abbau geschützt und die Zellproliferation stimuliert. Darüber hinaus ist Fibrin geschwindigkeitsbestimmender Kofaktor für verschiedene enzymatische Reaktionen, wie zum Beispiel der t-PA-vermittelten Plasminogenaktivierung.

### 21.3.1 Fibrin und Thrombozyten

Aggregierte Thrombozyten bilden zusammen mit der Fibrinmatrix das Grundgerüst des Gerinnsels. Die dazu notwendige Interaktion der Fibrinmoleküle mit der Thrombozytenmembran wird hauptsächlich über den Integrinrezeptor Glykoprotein IIb/IIIa ($\alpha_{IIb}/\beta_3$) vermittelt. Darüber hinaus kommt es, vermittelt durch aktivierten Faktor XIII, zu einer kovalenten Bindung von Fibrin mit Proteinen des thrombozytären Zytoskeletts und mit thrombozytären Aktin-Myosin-Filamenten. Durch diese kovalente Integration von thrombozytären Proteinen wird im Gerinnsel eine stabile und mechanisch belastbare Verbindung zwischen der Fibrinmatrix und den aggregierten Thrombozyten erreicht.

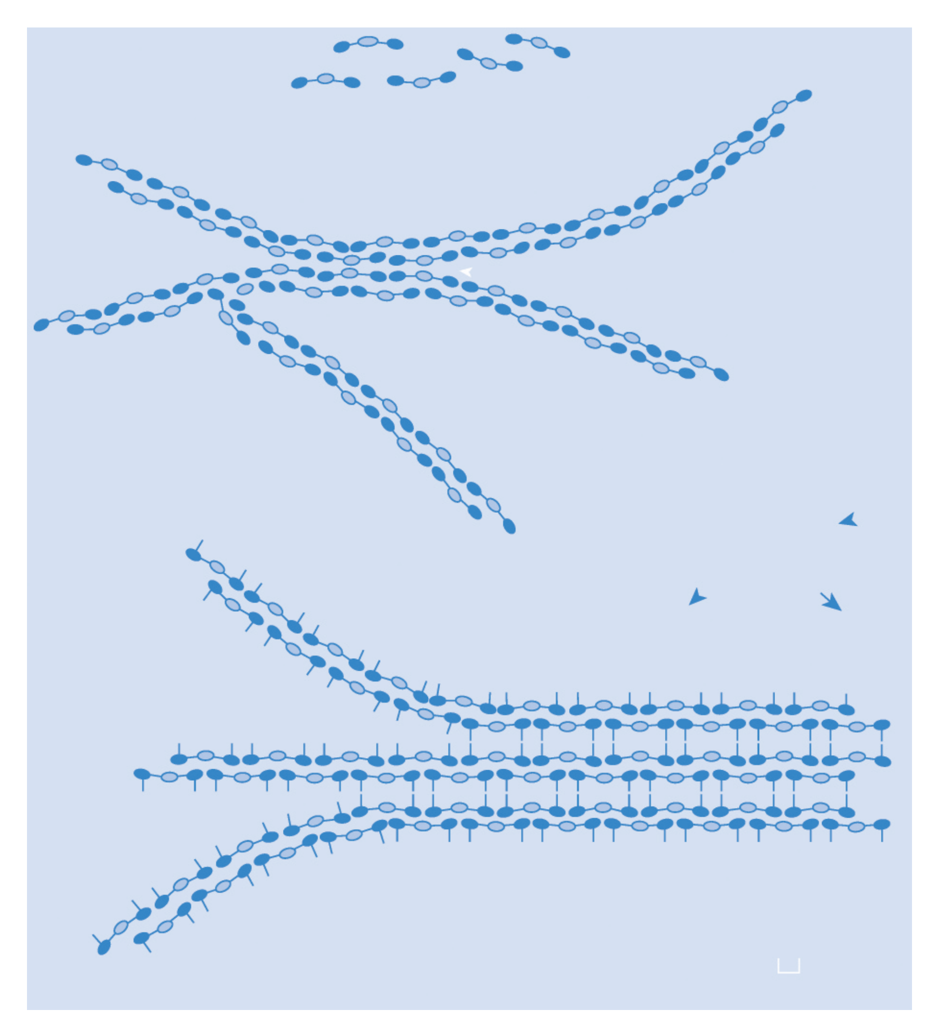


**Abb. 21.2.** Fibrinbildung. Thrombin spaltet aus den N-terminalen Enden der Aα- und Bβ-Ketten die Fibrinopeptide A und B (*FPA*, *FPB*) ab. Dadurch werden im Bereich der zentralen E-Domäne (*offene Kreissymbole*) Bindungsstellen freigelegt, die mit den D-Domänen (*geschlossene Kreissymbole*) von benachbarten Fibrinogenmolekülen reagieren können. Die entstehenden Fibrinmonomere bilden über eine Vielzahl von Verknüpfungspunkten ein Fibrinnetz, wie es in der elektronenmikroskopischen Abbildung erkennbar ist. Die *Pfeile* markieren tri- und tetramolekulare Verknüpfungspunkte

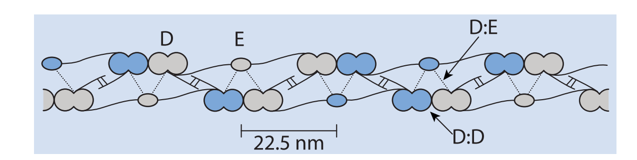



**Abb. 21.3.** Quervernetzung von Fibrin. *Gestrichelte Linie* nichtkovalente Bindungen zwischen den E- und D-Domänen, *durchgezogene Linie* kovalente Bindungen zwischen den einzelnen D-Domänen

### 21.3.2 Fibrin und Zellen des inflammatorischen Systems

Unmittelbar nach einer Fibrinbildung kommt es zur Invasion von Granulozyten und Monozyten in das entstandene Gerinnsel. Als Chemokine wirken dabei eine Vielzahl von Faktoren, zu denen die Fibrinopeptide A und B, Fibrindegradationsprodukte, Kollagenfragmente, Elastin, Fibronektin und α-Thrombin sowie »transforming growth factor β« zählen (Richardson et al. 1976; Gross et al. 1997). Die enge Kopplung zwischen der Fibrinbildung und der Einwanderung von Leukozyten ermöglicht es, im Rahmen der Verletzung eingedrungene Krankheitserreger zu phagozytieren und durch die Bildung von Sauerstoffradikalen und anderen toxischen Metaboliten abzutöten.

### 21.3.3 Fibrin und Endothelzellen

Der Invasion von Leukozyten in das Fibringerüst folgt die Migration von Endothelzellen, die aus benachbarten Gefäßregionen in die Fibrinmatrix einwandern (Gorodetsky et al. 1999). Welche Rolle zirkulierende endotheliale Progenitorzellen in diesem Prozess spielen, ist noch nicht geklärt. Durch den Kontakt mit Fibrin beginnen die eingewanderten Endothelzellen tubuläre Strukturen auszubilden. Die Interaktion der Endothelzellen mit Fibrin wird wesentlich durch Integrinrezeptoren vermittelt (Rouslahti 1996). Die zur Bindung an Integrinrezeptoren wichtige RGD-Sequenz ist in der Aα-Kette in Position 572-574 lokalisiert. Die angeborene Dysfibrinogenämie vom Typ Fibrinogen Nieuwegein ist durch eine trunkierte Aα-Kette charakterisiert, der die RGD-Bindungsdomäne und die Faktor-XIII-Quervernetzungsstelle fehlt (Collen et al. 2001). Wird diese Fibrinogenvariante in einem Angiogenesemodell eingesetzt, ist die Endothelzelladhäsion nicht beeinträchtigt. Es kommt aber zu keiner Ausbildung von kapillarähnlichen Strukturen.

### 21.3.4 Fibrin und Fibroblasten

Mit einer zeitlichen Verzögerung von etwa 5 Tagen beginnen Fibroblasten in die Fibrinmatrix einzuwandern (Clark 1993). Die Proliferation der Fibroblasten wird neben den Wachstumsfaktoren »platelet derived growth factor« und »transforming growth factor β« auch durch Fibrin und Fibrindegradationsprodukte stimuliert. In Zellkulturexperimenten konnte gezeigt werden, dass Fibrin die Expression von Integrinrezeptoren durch Fibroblasten stimuliert (Cox et al. 2004).

### 21.3.5 Fibrin-Protein-Interaktionen

Fibrin kann mit einer Reihe von verschiedenen Proteinen kovalente und nichtkovalente Bindungen eingehen. Durch Bindung an von-Willebrand-Faktor, Fibronektin, Thrombospondin und Fibulin wird die Interaktion des Fibringerinnsels mit den verletzten Gewebestrukturen und den Thrombozyten weiter verstärkt (Laurens 2006).

Katalysiert durch aktivierten Faktor XIII, wird eine Reihe von verschiedenen Proteinen, zu denen $\alpha_2$-Antiplasmin, $\alpha_2$-Makroglobulin und verschiedene Wachstumsfaktoren wie zum Beispiel »fibroblast growth factor-2« zählen, in das entstehende Fibringerinnsel integriert. Dadurch wird die Resistenz des Fibringerinnsels vor fibrinolytischem Abbau erhöht und zellproliferierende Stimuli werden in das Gerinnsel integriert.

Eine weitere Fibrin-Protein-Interaktion betrifft die Funktion von Fibrin als Kofaktor in der thrombinvermittelten Faktor-XIII-Aktivierung und in der t-PA-vermittelten Plasminogenaktivierung. Da in beiden Enzymreaktionen Fibrin das wesentliche Substrat darstellt, wird durch die Kofaktorfunktion die Enzymaktivierung an das Vorhandensein des Substrats Fibrin gekoppelt und eine ungerichtete Enzymaktivierung verhindert.

## 21.4 Fibrin(ogen)varianten

Das Fibrinogenmolekül unterliegt einer hohen Heterogenität. Ausgelöst werden kann diese Heterogenität durch Splicevarianten, durch Unterschiede im Phosphorylierungs- und Glykosylierungsmuster, durch partielle intravasale Degradation sowie durch genetische Polymorphismen (de Maat u. Verschuur 2005). Alle diese Einflussfaktoren können die Qualität und Quantität der Fibrinbildung beeinflussen und sind wahrscheinlich eine Ursache für interindividuelle Unterschiede in der Wundheilung.

Das sezernierte Fibrinogenmolekül wird in der Zirkulation partiell degradiert, sodass daraus niedermolekulare Fibrinogenvarianten mit einem Molekulargewicht von 270–305 kDa resultieren. Diese Varianten entstehen durch partielle Degradation des C-terminalen Endes einer oder beider Aα-Ketten (Holm et al. 1985). Diese 3 natürlicherweise auftretenden Varianten unterscheiden sich in ihrer angiogenetischen Potenz und in ihrer Gerinnbarkeit, da in der C-terminalen Region der Aα-Kette Bindungsstellen für Zellen und Polymerisationsstellen für die laterale Assoziation der Fibrinketten lokalisiert sind.

Eine weitere Fibrinogenvariante ist die γ‘-Variante. Hierbei handelt es sich um eine Splicevariante mit einer veränderten C-terminalen Sequenz in der γ-Kette. In der γ‘-Variante werden die letzten 4 C-terminalen Aminosäuren durch 20 Aminosäuren ersetzt. Dadurch wird die γ-Kette von 49,5 auf 51,5 kDa verlängert (Collet et al. 2004). Das aus dieser Fibrinogenvariante gebildete Fibrin ist weniger lyseempfindlich, hauptsächlich durch eine verstärkte Quervernetzungsrate, da in dieser Variante neue Bindungsstellen für die Faktor-XIII-B-Domäne und Thrombin angelegt sind.

Eine andere Fibrinogenvariante ist die Fib420-Form, die auch als $A\alpha_E$-Form bezeichnet wird. Durch differenzielles Splicing eines Extraexons wird in dieser Variante das C-terminale Ende verlängert. Daraus resultiert eine noduläre Struktur des C-Terminus. Diese Fibrinogenvariante hat ein Molekulargewicht von 340 kDa und wird daher auch als HMW-(»high molecular weight«-)Fibrinogen bezeichnet (Mossesson 2003). Das Vorliegen dieser Variante hat wahrscheinlich einen Einfluss auf die Quervernetzungsrate und die Lysesensitivität. Vermutlich ist die Rate der α-γ-Quervernetzung durch Faktor XIII aufgrund sterischer Inhibierung eingeschränkt. Aus dem gleichen Grund dürfte auch die plasmininduzierte Fibrinolyse eingeschränkt sein.

Im Unterschied zu den oben beschriebenen Fibrinogenvarianten, die bei allen Menschen auftreten können, sind im Fibrinogengencluster eine Reihe von Polymorphismen beschrieben worden. Einer dieser Polymorphismen betrifft die Aα-Kette und führt zu einer Substitution der Aminosäure Threonin durch Alanin an Position 312 (Baumann u. Henschen 1993). Diese Mutation ist in einer Molekülregion lokalisiert, in der Faktor-XIII-Quervernetzungspunkte liegen. Es konnte gezeigt werden, dass die Alaninvariante dickere Fibrinfäden erzeugen kann. Ein zweiter näher charakterisierter Polymorphismus ist in der C-terminalen Region der Bβ-Kette lokalisiert. In Position 448 führt er zu einem Austausch von Arginin durch Lysin. Möglicherweise hat auch dieser Polymorphismus einen direkten Einfluss auf die Struktur des Fibringerinnsels (Lim et al. 2003).

## 21.5 Fibrinogenmangel

Der Fibrinogenmangel kann angeboren oder erworben auftreten. Beim angeborenen Fibrinogenmangel wird zwischen einer Afibrinogenämie, einer Hypofibrinogenämie und einer Dysfibrinogenämie unterschieden. Bei der Afibrinogenämie kann weder mit funktionellen noch mit immunologischen Testverfahren Fibrinogen im Plasma nachgewiesen werden, im Fall der Hypofibrinogenämie werden gleichermaßen erniedrigte Fibrinogenspiegel im funktionellen und immunologischen Test gemessen. Diese Konstellation entspricht dem Typ-I-Mangel bei anderen Gerinnungsfaktormangelerkrankungen. Die Dysfibrinogenämie ist durch die Synthese eines funktionell gestörten Fibrinogenmoleküls gekennzeichnet. Dementsprechend werden mit funktionellen Testverfahren niedrigere Konzentrationen als mit immunologischen Testverfahren gemessen. Das Blutungsrisiko von Patienten mit Hypo- und Dysfibrinogenämie ist eher niedrig. Klinisch relevante Blutungen treten meist erst bei einer Konzentration an gerinnbarem Fibrinogen von <20 mg/dl auf. Auch Patienten mit einer Afibrinogenämie sind lebensfähig. Spontane Blutungskomplikationen und verstärkte Blutungen nach kleineren Verletzungen sind typische Symptome (▶ Kap. 30.4).

Der erworbene Fibrinogenmangel ist eine häufig auftretende Gerinnungsstörung, die durch

- eine Synthesestörung (▶ Kap. 30.9),
- einen erhöhten intravasalen Umsatz (▶ Kap. 34.3),
- einen Verlust (▶ Kap. 30.10) oder
- einen verstärkten fibrinolytischen Abbau (▶ Kap. 30.7)



ausgelöst sein kann. Das differenzialdiagnostische und therapeutische Vorgehen hängt von der klinischen Konstellation und der zugrunde liegenden Ursache ab. Zur Therapie des Fibrinogenmangels steht unter anderem ein aus Plasma gereinigtes Fibrinogenkonzentrat zur Verfügung (▶ Kap. 50.4).

### Literatur

Baumann RE, Henschen AH (1993) Human fibrinogen polymorphic site analysis by restriction endonuclease digestion and allele-specific polymerase chain reaction amplification: identification of polymorphisms at position A alpha 312 and B beta 448. Blood 82: 2117–2124

Blombäck B, Blombäck M, Henschen A et al. (1968) N-terminal disulphide knot of human fibrinogen. Nature 218: 130–134

Clark RA (1993) Regulation of fibroplasia in cutaneous wound repair. Am J Med Sci 306: 42–48

Collen A, Maas A, Kooistra T et al. (2001) Aberrant fibrin formation and cross-linking of fibrinogen Nieuwegein, a variant with a shortened Aalpha-chain, alters endothelial capillary tube formation. Blood 97: 973–980

Collet JP, Nagaswami C, Farrell DH et al. (2004) Influence of gamma' fibrinogen splice variant on fibrin physical properties and fibrinolysis rate. Arterioscler Thromb Vasc Biol 24: 382–386

Cox S, Cole M, Tawil B (2004) Behavior of human dermal fibroblasts in three-dimensional fibrin clots: dependence on fibrinogen and thrombin concentration. Tissue Eng 10: 942–954

de Maat MPM, Verschuur M (2005) Fibrinogen heterogeneity: inherited and non-inherited. Curr Opin Hematol 12: 377–383

Gorodetsky R, Clark RA, An J et al. (1999) Fibrin microbeads (FMB) as biodegradable carriers for culturing cells and for accelerating wound healing. J Invest Dermatol 112: 866–872

Gross TJ, Leavell KJ, Peterson MW (1997) CD11b/CD18 mediates the neutrophil chemotactic activity of fibrin degradatin product D domain. Thromb Haemost 77: 894–900

Holm B, Nilsen DW, Kierulf P et al. (1985) Purification and characterization of 3 fibrinogens with different molecular weights obtained from normal human plasma. Thromb Res 37: 165–176

Laurens N, Koolwijk P, de Maat MP (2006) Fibrin structure and wound healing. J Thromb Haemost 5: 932–9

Lim BC, Ariens RA, Carter AM et al. (2003) Genetic regulation of fibrin structure and function: complex gene-environment interactions may modulate vascular risk. Lancet 361: 1424–1431

Lord ST (2007) Fibrinogen and fibrin: scaffold proteins in hemostasis. Curr Opin Hematol 14: 236–241

Lou XJ, Boonmark NW, Horrigan FT, Degen JL, Lawn RM (1998) Fibrinogen deficiency reduces vascular accumulation of apolipoprotein(a) and development of atherosclerosis in apolipoprotein(a) transgenic mice. Proc Natl Acad Sci USA 13(95): 12591–5

Mossesson MW (2003) Fibrinogen gamma chain functions. J Thromb Haemost 1: 231–238

Nguyen MD, Simpson-Haidaris PJ (2000) Cell type-specific regulation of fibrinogen expression in lung epithelial cells by dexamethason and interleukin-1beta. Am J Respir Cell Mol Biol 22: 209–217

Otto JM, Grenett HE, Fuller GM (1987) The coordinated regulation of fibrinogen gene transcription by hepatocyte-stimulating factor and dexamethasone. J Cell Biol 105: 1067–1072

Richardson DL, Pepper DS, Kay AB (1976) Chemotaxis for human monocytes by fibrinogen derived peptides. Br J Haematol 32: 507–513

Rouslahti E (1996) RGD and other recognition sequences for integrins. Annu Rev Cell Dev Biol 12: 697–715

Roy S, Overton O, Redman C (1994) Overexpression of any fibrinogen chain by Hep G2 cells specifically elevates the expression of the other two chains. J Biol Chem 269: 691–695

Weisel JW (2005) Fibrinogen and fibrin. Adv Protein Chem 70: 247–299

# 22 Faktor XIII

*V. Schroeder, H.-P. Kohler*

## Einleitung

Der Blutgerinnungsfaktor XIII (FXIII) spielt eine zentrale Rolle in der Hämostase, da er für die Vernetzung der Fibrinfäden zu einem festen, unlöslichen Gerinnsel verantwortlich ist. Jegliche Gerinnselbildung im menschlichen Körper, sei dies ein Thrombus in einem Koronargefäß (akuter Herzinfarkt) oder ein Embolus in einer Pulmonalarterie (akute Lungenembolie), ist also nur infolge der vernetzenden Funktion von FXIII entstanden. Aus diesem Grund wurde FXIII früher auch »fibrinstabilisierender Faktor« genannt. Da FXIII nicht wie die anderen Gerinnungsfaktoren zur Gruppe der proteinspaltenden Serinproteasen gehört, sondern Proteine vernetzt, nimmt FXIII schon wegen seiner Funktion eine Sonderstellung unter den Gerinnungsfaktoren ein. Aufgrund dieser zentralen Funktion in der Gerinnselbildung leiden Patienten mit angeborenem, komplettem FXIII-Mangel an einer ausgeprägten und potenziell lebensgefährlichen Blutungsneigung.

## 22.1 Struktur und Vorkommen

Im Plasma zirkuliert FXIII als ein Tetramer, das aus je 2 A- und B-Untereinheiten aufgebaut ist. Die FXIII-A-Untereinheit hat ein Molekulargewicht von ~83 kDa und besteht aus 731 Aminosäuren. Die B-Untereinheit hat ein Molekulargewicht von ~80 kDa und besteht aus 641 Aminosäuren.

Im Plasma zirkuliert die FXIII-A-Untereinheit nur als Bestandteil des Tetramers, frei zirkulierende A-Untereinheit ist im Plasma also nicht vorhanden. Die FXIII-B-Untereinheit hingegen zirkuliert im Plasma auch als B2-Homodimer (B2; Schwartz et al. 1971).

FXIII ist nicht nur im Plasma zu finden, sondern auch in Blutplättchen und Makrophagen. In dieser intrazellulären Form besteht der FXIII nur aus der A-Untereinheit, und zwar in der Form als A2-Homodimer (A2). Die FXIII-A-Untereinheit wird vorwiegend im Knochenmark synthetisiert, speziell von Megakaryozyten, Monozyten und Makrophagen. Die FXIII-B-Untereinheit wird durch die Hepatozyten in der Leber synthetisiert (Muszbek et al. 1996).

## 22.2 Funktion

Der Blutgerinnungsfaktor XIII gehört zur Gruppe der Transglutaminasen. Transglutaminasen stellen wahrscheinlich die ältesten Gerinnungsproteine überhaupt dar (Lorand 2005). Als Transglutaminase nimmt FXIII im Vergleich zu den anderen Gerinnungsfaktoren eine Sonderstellung ein, da die anderen Gerinnungsproteine vorwiegend Serinproteasen darstellen, also Proteine spalten. FXIII hingegen *vernetzt* Proteine. Als Transglutaminase gehört FXIII zur Klasse der Aminotransferasen und katalysiert die Bildung einer Isopeptidbindung zwischen der ε-Aminogruppe der Aminosäure Lysin und der γ-Glutamylgruppe der Aminosäure Glutamin (Abb. 22.1). Im menschlichen Organismus sind weitere Transglutaminasen zu finden, welche zahlreiche Funktionen außerhalb der Hämostase ausüben (Lorand u. Graham 2003). Prinzipiell sind Transglutaminasen biologische Kleber, die hochmolekulare Proteinstrukturen aufbauen können.

### 22.2.1 Aktivierung von FXIII

Im Plasma wird FXIII durch Thrombin aktiviert und damit vom Zymogen (FXIII) in das aktive Enzym (FXIIIa) überführt (Abb. 22.1). Der erste Schritt dieser Aktivierung ist die Abspaltung des aus 37 Aminosäuren bestehenden Aktivierungspeptids vom N-Terminus der FXIII-A-Untereinheit durch Thrombin. Diese Reaktion wird durch die Gegenwart von Fibrin massiv beschleunigt (Janus et al. 1983). Kürzlich konnte gezeigt werden, dass das Aktivierungspeptid nach erfolgter Spaltung durch Thrombin auch tatsächlich ins Plasma freigesetzt wird (Schroeder et al. 2007) und offensichtlich *nicht* weiterhin nichtkovalent an der FXIII-A-Untereinheit gebunden bleibt, was lange kontrovers diskutiert wurde (Yee et al. 1994; Yee et al. 1995). Durch eine komplette Abspaltung und Freisetzung des Aktivierungspeptids wird der Zugang zum aktiven Zentrum erleichtert und außerdem die Verbindung zwischen den Untereinheiten gelockert, was die schrittweise Dissoziation des FXIII-Tetramers begünstigt. Die endgültige Dissoziation der A- und B-Untereinheiten ist schließlich die Folge von Konformationsänderungen aufgrund der Bindung von Kalziumionen und wird wiederum durch die Gegenwart von Fibrin erleichtert. In Abwesenheit der B-Untereinheit und in Gegenwart von Kalzium nimmt die A-Untereinheit die aktive Konfiguration ein und kann als Transglutaminase wirksam werden, da die freie Thiolgruppe des aktiven Zentrums nun exponiert ist.

Nachdem der Koagulationsprozess stattgefunden hat, das heißt das initial lösliche Fibrin durch den FXIII zu

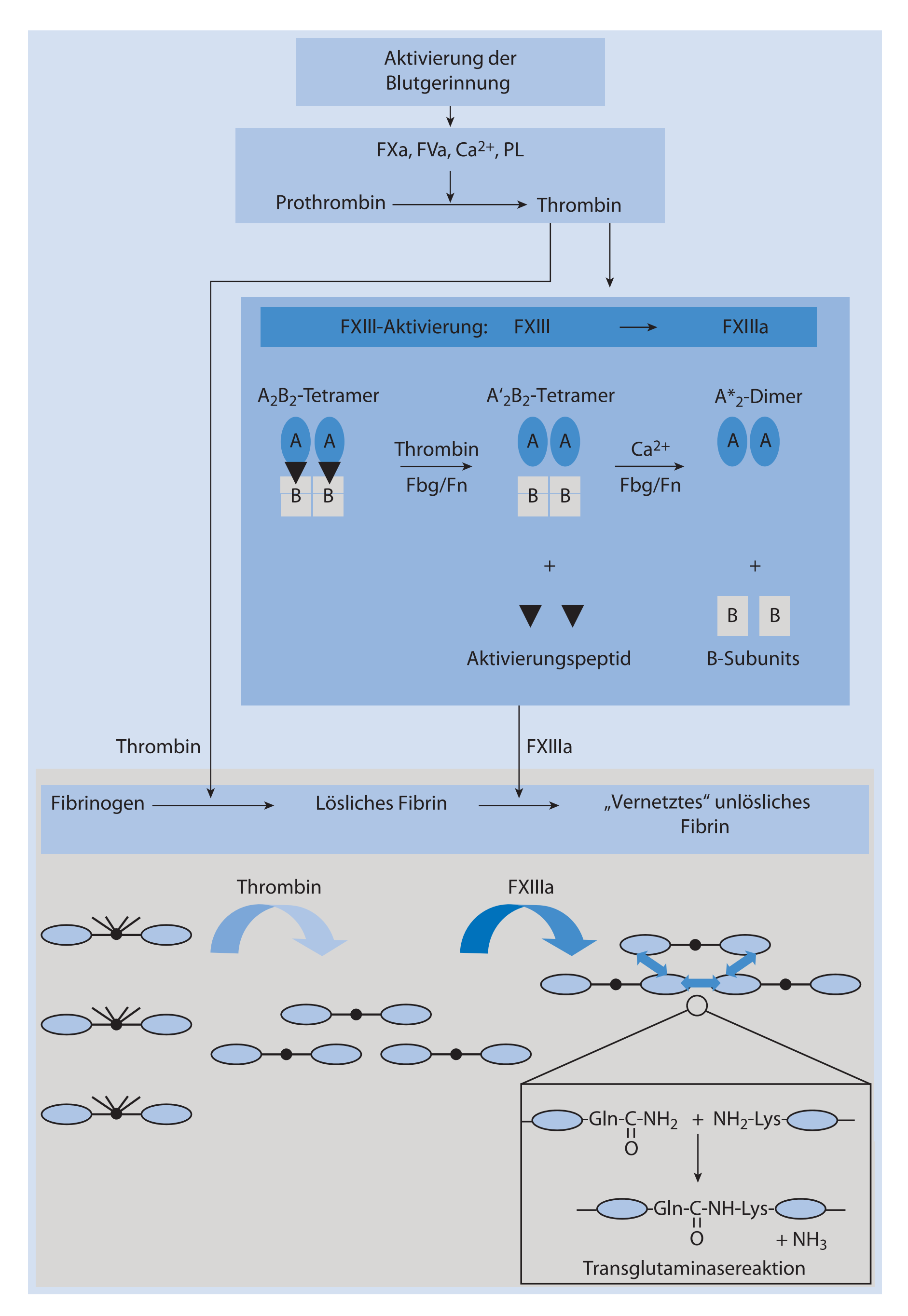



**Abb. 22.1.** Struktur, Aktivierung und Funktion von FXIII. *$A_2B_2$* FXIII-Tetramer, *$A'_2B_2$* Tetramer ohne Aktivierungspeptid, *$A^*_2$ Dimer* aktiviertes FXIII-A-Dimer, *A* FXIII-A-Untereinheit, *B* FXIII-B-Untereinheit, *Fbg* Fibrinogen, *Fn* Fibrin, *Gln* Glutamin, *Lys* Lysin, *PL* Phospholipide

einem unlöslichen Fibringerinnsel vernetzt wurde, kann FXIII im Serum nicht mehr nachgewiesen werden, da FXIII nach der Fibrinvernetzung fest am Fibrin gebunden bleibt und somit aus der Zirkulation entfernt wird. Zudem wird FXIII infolge der Konformationsänderung der A-Untereinheit an einer zweiten Thrombinbindungstelle durch Thrombin gespalten, was zum proteolytischen Abbau von FXIII führt (Ichinose 1994).

Um eine effiziente Hämostase zu ermöglichen, müssen die Interaktionen zwischen FXIII und Fibrin/Fibrinogen wie auch deren Aktivierung zeitlich gut aufeinander abgestimmt sein. Thrombin spielt in diesem Zusammenhang eine äußerst wichtige Rolle, indem es eine Synchronisation der Aktivierungsschritte vornimmt, damit FXIII nicht verbraucht wird, bevor sein natürliches Substrat Fibrin zur Quervernetzung vorliegt (Lorand 2001).

### 22.2.2 Physiologische Aufgaben

Die Hauptaufgabe von FXIII liegt in der Stabilisierung eines Blutgerinnsels während des Gerinnungsvorgangs. Durch die Wirkung von FXIII entsteht ein mechanisch viel stabileres Blutgerinnsel, und zwar infolge der »crosslinking reaction«, d. h. der kovalenten Vernetzung von Fibrinfäden. Daneben werden durch FXIII auch antifibrinolytische Proteine ins Gerinnsel inkorporiert, welche das Gerinnsel vor einer frühzeitigen Auflösung durch das fibrinolytische System schützen (Mosesson 2005).

Nicht nur Fibrinogen/Fibrin ist ein natürliches Substrat von FXIII, sondern auch zahlreiche andere Gerinnungsproteine wie z. B. Faktor V (FV), $\alpha_2$-Antiplasmin ($\alpha_2$-AP), Plasminogenaktivatorinhibitor 2 (PAI-2), »thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor« (TAFI) und Von-Willebrand-Faktor (vWF). Daneben sind auch Adhäsionsproteine und Proteine der extrazellulären Matrix wie Fibronektin, Vitronektin, Osteopontin, Kollagen und Thrombospondin, aber auch Proteine des Zytoskeletts wie Aktin, Myosin und Vinkulin natürliche Substrate von FXIII (Muszbek et al. 1996). Dies macht deutlich, dass FXIII zahlreiche weitere Aufgaben außerhalb der Blutgerinnung ausübt.

Eine dieser Aufgaben geht aus den oben aufgeführten Substraten hervor, nämlich die wichtige Rolle von FXIII in der Wundheilung, bei der das »crosslinking« von Komponenten der extrazellulären Matrix sowie auch direkte proangiogenetische Effekte im Vordergrund stehen (Inbal u. Dardik 2006). Evidenz für diese wichtige Rolle von FXIII geht aus experimentellen wie auch klinischen Beobachtungen hervor, wie z. B. der Verbesserung der endothelialen Barrierefunktion (Noll et al. 1999) oder der klinischen Besserung bei Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen nach intravenöser Gabe von FXIII (Lorenz et al. 1995).

Außerdem wird FXIII für die Aufrechterhaltung einer Schwangerschaft benötigt, da bei Frauen mit kongenitalem FXIII-Mangel in der Regel spontane Aborte auftreten. In der Plazenta wurde FXIII in der Grenzschicht zwischen mütterlichem und fötalem Gewebe nachgewiesen, bei komplettem FXIII-Mangel kann es zu einer frühzeitigen Ablösung der Plazenta und damit zum Abort kommen (Asahina et al. 2000; Inbal u. Muszbek 2003). Über mögliche Funktionen des intrazellulären FXIII ist zurzeit noch sehr wenig bekannt.

## 22.3 Molekularbiologie

### 22.3.1 Lokalisation der beiden FXIII-Gene

Das Gen, welches die FXIII-A-Untereinheit kodiert, ist auf Chromosom 6, p24-25 lokalisiert (Board et al. 1988). Es umspannt über 160 Kilobasenpaare und besitzt 15 Exons, separiert durch 14 Introns. Das Gen für die FXIII-B-Untereinheit befindet sich auf Chromosom 1, q31-32.1 (Webb et al. 1989). Es umspannt 28 Kilobasenpaare und besitzt 12 Exons und 11 Introns.

### 22.3.2 Die kongenitale FXIII-Mangelerkrankung

#### Symptome und Epidemiologie

Praktisch alle Patienten mit komplettem, kongenitalem FXIII-Mangel (homozygote Form) leiden unter einer ausgeprägten Blutungsneigung, wobei Blutungen typischerweise erst Stunden oder Tage nach einer Verletzung auftreten. Das erste und zugleich sehr charakteristische Symptom ist die Nabelstumpfblutung einige Tage nach der Geburt. Andere häufige Blutungsmanifestationen sind in ◘ Tab. 22.1 zusammengefasst (Anwar u. Miloszewski 1999; Ivaskevicius et al. 2007). Am schwerwiegendsten ist die Hirnblutung, welche die häufigste Todesursache bei diesen Patienten darstellt. Der kongenitale FXIII-Mangel führt aber aufgrund der vielseitigen Aufgaben von FXIII nicht nur zu Blutungen, sondern auch zu Wundheilungsstörungen und bei schwangeren Frauen zu spontanen Aborten (zumeist im ersten Trimenon).

Der kongenitale FXIII-Mangel ist eine sehr seltene, autosomal rezessiv vererbte Erkrankung, welche Männer und Frauen gleichermaßen betrifft. Die Häufigkeit beträgt etwa 1 Patient auf 3 Mio. Einwohner (Board et al. 1993) und ist somit viel seltener als die Hämophilie A oder B. Die Diagnose eines kongenitalen FXIII-Mangels wird einerseits aufgrund des seltenen Vorkommens immer

**◘ Tab. 22.1.** Symptome der FXIII-Mangelerkrankung

| Symptome | Häufigkeit [%] |
|---|---|
| Nabelstumpfblutung | ≤80 |
| Oberflächliche oder subkutane Hämatome | 55–60 |
| Intramuskuläre Blutungen | 27–49 |
| Postoperativ, inkl. Zahnextraktionen | ≤40 |
| Intrakranielle Blutungen | 30–34 |
| Mundschleimhaut und Zahnfleisch | 30 |
| Gelenkblutungen | 24–36 |
| Wundheilungsstörungen | 14 |
| Blutungen im Gastrointestinaltrakt | 6 |
| Weitere Blutungsereignisse (inkl. Epistaxis, Hämaturie, retroperitoneale Blutungen, Menorrhagie) | (Selten) |

wieder verpasst, andererseits auch wegen der Tatsache, dass die normalerweise eingesetzten Routinetests der Blutgerinnung diesen Mangel nicht erfassen können, da diese Tests nicht zwischen quervernetztem und nicht quervernetztem Fibrin unterscheiden können. Der erste Fall von FXIII-Mangel wurde 1960 in der Literatur beschrieben (Duckert et al. 1960), der Gendefekt bei diesem Patienten wurde jedoch erst kürzlich charakterisiert (Schroeder et al. 2006).

### Genetik

Etwa 70 Mutationen im Gen der FXIII-A-Untereinheit wurden bisher beschrieben, welche für den kongenitalen FXIII-A-Mangel verantwortlich sind und zum vollständigen Fehlen von FXIII-Tetramer im Plasma führen. Mutationen in der FXIII-B-Untereinheit sind sehr viel seltener mit nur 4 derzeit bekannten Mutationen. Der FXIII-B-Mangel verläuft milder, da noch Restaktivitäten der katalytischen A-Untereinheit im Plasma nachweisbar sind (Ichinose 2001). Die meisten Mutationen führen zum Austausch von einzelnen Aminosäuren im Protein, was jedoch offenbar immer zu großen strukturellen Änderungen führt und Instabilität und vorzeitigen Zerfall des Proteins nach sich zieht. Es wurden aber auch Mutationen beschrieben, welche zu Stoppkodons führen, Deletionen und Insertionen sowie Mutationen, welche das Splicing der Messenger-RNA behindern (Ivaskevicius et al. 2007).

### Diagnose

Die Diagnose der FXIII-Mangelerkrankung kann nicht immer kurz nach der Geburt gestellt werden, da die klinischen Zeichen nicht bei allen Patienten gleich früh bzw. gleich stark auftreten. Die Diagnose sollte aber aufgrund der jederzeit möglichen und potenziell lebensgefährlichen Blutungen nicht verpasst werden, insbesondere bei Patienten mit einer unklaren Blutungsneigung.

Die direkte Bestimmung des FXIII im Plasma erfordert spezielle Tests, welche nicht in jedem Spital zur Verfügung stehen. Da die Funktion des FXIII im Vernetzen von bereits gebildeten Fibrinfäden liegt, wird der FXIII-Mangel von den üblichen Globaltests wie der Prothrombinzeit (PT) oder der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (APTT) nicht erfasst. Diese Tests erkennen bereits Fibrin als Gerinnsel, welches noch nicht durch FXIII quervernetzt wurde.

In der Vergangenheit wurde FXIII meist durch den »clot solubility test« nachgewiesen. Bei diesem Test lässt man Plasma gerinnen, das Gerinnsel wird dann in Harnstoff oder Monochloressigsäure resuspendiert. Ist FXIII vorhanden (>5%), löst sich das Gerinnsel nicht auf, da die einzelnen Fibrinfäden durch FXIII in ein unlösliches Netzwerk überführt wurden. Fehlt jedoch der FXIII (kompletter FXIII-Mangel), löst sich das Gerinnsel auf. Dieser Test erlaubt jedoch nur grobe semiquantitative FXIII-Bestimmungen und ergibt schon ab FXIII-Plasmaspiegeln von rund 5% »normale« Resultate (Wilmer et al. 2002). Aus diesen Gründen sind quantitative Aktivitätsteste (Wilmer et al. 2001) oder Antigentests (Ariëns et al. 1999; Katona et al. 2000) vorzuziehen.

Im Unterschied zur Hämophilie A oder B kommen beim kongenitalen FXIII-A-Untereinheit-Mangel keine unterschiedlich ausgeprägten Phänotypen vor. Besteht effektiv ein homozygoter FXIII-A- Untereinheit -Mangel, ist mit einem empfindlichen Antigentest (ELISA) kein FXIII-A in der Zirkulation messbar.

### Therapie

Die Therapie des FXIII-Mangels erfolgt durch die intravenöse Gabe eines FXIII-Konzentrats. Bei der homozygoten FXIII-Mangelerkrankung ist in der Regel eine prophylaktische Therapie indiziert

Das FXIII-Konzentrat ist hierzulande unter dem Namen Fibrogammin® HS kommerziell erhältlich. Aufgrund der langen Halbwertszeit von FXIII im Plasma von ungefähr 10 Tagen muss eine Substitution nur alle 4–6 Wochen erfolgen. Unter dieser regelmäßigen Substitution können Patienten ein nahezu normales Leben führen. Bei operativen Eingriffen oder während einer Schwangerschaft muss jedoch eine engmaschige Überwachung erfolgen, da in diesen Situationen auch größere Mengen an FXIII-Konzentrat benötigt werden (Meili 2002). Eine Schwangerschaft bei komplettem FXIII-Mangel muss klar als Risikoschwangerschaft betrachtet werden und benötigt eine interdisziplinäre ärztliche Betreuung (Ichinose et al. 2005). Bald werden auch rekombinante FXIII-Produkte zur Verfügung stehen. Die ersten klinischen Studien sind bereits erfolgt (Visich et al. 2005; Lovejoy et al. 2006).

Heterozygote Träger einer FXIII-Mutation, welche zum FXIII-Mangel führt, haben etwartungsgemäß einen FXIII-Antigenspiegel von ca. 50%. Dies führt in der Regel zu keinen schwerwiegenden klinischen Problemen, da mit solchen Plasmaspiegeln eine praktisch normale Blutgerinnung vorhanden ist. In speziellen Situationen wie z. B. Schwangerschaft oder Operationen sind Blutungskomplikationen bei heterozygoten Trägern trotzdem denkbar.

### Internationales Register zum FXIII-Mangel

Seit April 2006 besteht ein internationales, öffentlich zugängliches Register zum kongenitalen FXIII-Mangel, in welchem die bisher gemeldeten Fälle aufgeführt sind (Ivaskevicius et al. 2007). Dieses Register ist im Internet zu finden unter http://www.f13-database.de. Das Ziel dieser Datenbank ist es, möglichst alle Patienten mit FXIII-Mangel zu registrieren, um dieses seltene Krankheitsbild in Zukunft noch besser verstehen zu können.

### 22.3.3 Polymorphismen im Gen der FXIII-A-Untereinheit

Das Gen für die FXIII-A-Untereinheit weist einige in der Bevölkerung häufig vorkommende Mutationen, sog. Polymorphismen, auf, welche jedoch nicht zum FXIII-Mangel führen, da sie den FXIII-Antigenspiegel im Plasma nur unwesentlich beeinflussen. Diese Polymorphismen führen jedoch zum Teil zu unterschiedlichen FXIII-Aktivitäten bzw. FXIII-Aktivierungsraten. Folgende Polymorphismen wurden beschrieben: Val34Leu (d. h. Austausch der Aminosäure Valin an Position 34 durch Leucin), Tyr204Phe, Pro564Leu, Val650Ile und Glu651Gln. Das Leu564-Allel wurde mit erhöhter, das Phe204-Allel mit erniedrigter spezifischer FXIII-Aktivität assoziiert (Anwar et al. 1999). Der bekannteste Polymorphismus im Gen der FXIII-A-Untereinheit ist jedoch FXIIIVal34Leu, welcher auch im Zusammenhang mit kardiovaskulären Erkrankungen intensiv untersucht wurde und daher im Folgenden detaillierter dargestellt wird:

Die Punktmutation von Guanin zu Thymin (G→T) im Kodon 34, Exon 2 des Gens der FXIII-A-Untereinheit führt im FXIII-A-Protein zum Austausch von Valin an der Position 34 durch Leucin (Mikkola et al. 1994). Dieser Aminosäureaustausch erfolgt innerhalb des Aktivierungspeptids nur 3 Aminosäuren von der Thrombinaktivierungsstelle zwischen Arg37 und Gly38 entfernt. Die Allelfrequenz des Leu34-Allels ist bei verschiedenen ethnischen Gruppen unterschiedlich: 25–30% bei Kaukasiern, 30% bei indogenen Völkern Amerikas (»native Americans«, »American Indians«), 17% bei Afrikanern, 13% bei Südasiaten, aber nur 1% bei Japanern und noch seltener bei Taiwanchinesen (McCormack et al. 1998; Attié-Castro et al. 2000; Zheng et al. 2002).

Es konnte gezeigt werden, dass dieser Polymorphismus einen Schutz gegen Herzinfarkt (Kohler et al. 1998b, 1999) und venöse Thromboembolien (Catto et al. 1999), jedoch ein erhöhtes Risiko für intrazerebrale Blutungen darstellt (Catto et al. 1998). Diese Studien zeigten zum ersten Mal, dass FXIII bei thrombotischen Erkrankungen eine Rolle spielt. Weitere Studien folgten, welche diese Resultate bestätigten sowie neue protektive Effekte gegen einen ischämischen Hirninfarkt (Elbaz et al. 2000; Gemmati et al. 2001) und sogar Retinainfarkte (Weger et al. 2001) fanden. Einzelne Genassoziationsstudien konnten die antithrombotischen Effekte nicht bestätigen, was zum Teil sicherlich mit Unterschieden in Studienpopulationen und Studiendesign begründet werden kann.

Funktionelle Studien zeigten in der Folge, dass der Val34Leu-Polymorphismus zu einer erhöhten Aktivierungsrate und damit zu erhöhter FXIII-Aktivität führt (Kohler et al. 1998a; Kangsadalampai u. Board 1998; Anwar et al. 1999). Folgende Mechanismen, wie diese erhöhte Aktivierungsrate zu einem thrombotischen Schutz führt, wurden vorgeschlagen. Aufgrund einer verbesserten Interaktion mit Thrombin wird die FXIII-Leu34-Variante leichter und früher aktiviert, noch bevor das natürliche Substrat von FXIII Fibrin zur Verfügung steht. Dies führt zum Verbrauch von FXIII, ohne dass Fibrinfäden durch FXIII vernetzt werden konnten (Trumbo u. Maurer 2000). Außerdem wurde gezeigt, dass die FXIII-Leu34-Variante zu veränderten Fibrinstrukturen mit dünneren Fibrinfäden führt (Ariëns et al. 2000; Ariëns et al. 2002).

Eine aktuelle Metaanalyse hat den schützenden Effekt vor koronaren thrombotischen Ereignissen erneut bestätigt (Vokó et al. 2007).

### Literatur


Anwar R, Miloszewski KJ (1999) Factor XIII deficiency. Br J Haematol 107: 468–484

Anwar R, Gallivan L, Edmonds SD et al. (1999) Genotype/phenotype correlations for coagulation factor XIII: specific normal polymorphisms are associated with high or low factor XIII specific activity. Blood 93: 897–905

Ariëns RAS, Kohler HP, Mansfield MW et al. (1999) Subunit antigen and activity levels of blood coagulation factor XIII in healthy individuals. Relation to sex, age, smoking, and hypertension. Arterioscler Thromb Vasc Biol 19: 2012–6

Ariëns RAS, Philippou H, Chandrasekaran N et al. (2000) The factor XIII V34L polymorphism accelerates thrombin activation of factor XIII and affects cross-linked fibrin structure. Blood 96:988–995

Ariëns RAS, Lai TS, Weisel JW et al. (2002) Role of factor XIII in fibrin clot formation and effects of genetic polymorphisms. Blood 100: 743–754

Asahina T, Kobayashi T, Okada Y et al. (2000) Maternal blood coagulation factor XIII is associated with the development of cytotrophoblastic shell. Placenta 21: 388–393

Attié-Castro FA, Zago MA, Lavinha J et al. (2000) Ethnic heterogeneity of the factor XIII Val34Leu polymorphism. Thromb Haemost 84: 601–603

Board PG, Webb GC, McKee J et al. (1988) Localization of the coagulation factor XIII A subunit gene (F13A) to chromosome bands 6p24-p25. Cytogenet Cell Genet 48: 25–27

Board PG, Losowsky MS, Miloszewski KJ (1993) Factor XIII: inherited and acquired deficiency. Blood Rev 7: 229–242

Catto AJ, Kohler HP, Bannen S et al. (1998) Factor XIII gene Val34Leu polymorphism: a novel association with primary intracerebral haemorrhage. Stroke 29: 813–816

Catto AJ, Kohler HP, Coore J et al. (1999) Association of a common polymorphism in the factor XIII gene with venous thrombosis. Blood 93: 906–908

Duckert F, Jung E, Shmerling DH (1960) A hitherto undescribed congenital haemorrhagic diathesis probably due to fibrin stabilizing factor deficiency. Thromb Diath Haemorrh 5: 179–186

Elbaz A, Poirier O, Canaple S et al. (2000) The association between the Val34Leu polymorphism in the factor XIII gene and brain infarction. Blood 95: 586–591

Gemmati D, Serino ML, Ongaro A et al. (2001) A common mutation in the gene for coagulation factor XIII-A (Val34Leu): A risk factor for primary intracerebral hemorrhage is protective against atherothrombotic diseases. Am J Hematol 67: 183–188

Ichinose A (1994) The physiology and biochemistry of factor XIII. In: Bloom AL, Forbes CD, Thomas DP et al. (ed) Haemostasis and Thrombosis, 3rd edn, Vol. 1. Livingstone, Edinburgh pp 531–546

Ichinose A, Asahina T, Kobayashi T (2005) Congenital blood coagulation factor XIII deficiency and perinatal management. Curr Drug Targets 6: 541–549

Inbal A, Muszbek L (2003) Coagulation factor deficiencies and pregnancy loss. Semin Thromb Hemost 29: 171–174

Inbal A, Dardik R (2006) Role of coagulation factor XIII (FXIII) in angiogenesis and tissue repair. Pathophysiol Haemost Thromb 35: 162–165

Ivaskevicius V, Seitz R, Kohler HP et al. (2007) International registry on factor XIII deficiency: a basis formed mostly on European data. Thromb Haemost 97: 914–921

Janus TJ, Lewis SD, Lorand L et al. (1983) Promotion of thrombin-catalyzed activation of factor XIII by fibrinogen. Biochemistry 22: 6269–6272

Kangsadalampai S, Board PG (1998) The Val34Leu polymorphism in the A-subunit of coagulation factor XIII contributes to the large normal range in activity and demonstrates that the activation peptide plays a role in catalytic activity. Blood 92: 2766–2770

Katona E, Haramura G, Kárpáti L et al. (2000) A simple, quick one-step ELISA assay for the determination of complex plasma factor XIII (A2B2). Thromb Haemost 83: 268–273

Kohler HP, Ariëns RAS, Whitaker P et al. (1998a) A common coding polymorphism in the factor XIII A-subunit gene (FXIIIVal34Leu) affects cross-linking activity. Thromb Haemost 80: 704

Kohler HP, Stickland MH, Ossei-Gerning N et al. (1998b) Association of a common polymorphism in the factor XIII gene with myocardial infarction. Thromb Haemost 79: 8–13

Kohler HP, Futers TS, Grant PJ (1999) Prevalence of three common polymorphisms in the A-subunit gene of factor XIII in patients with coronary artery disease. Association with FXIII activity and antigen levels. Thromb Haemost 81: 511–515

Lorand L (2001) Factor XIII: Structure, activation, and interactions with fibrinogen and fibrin. Ann N Y Acad Sci 936: 291–311

Lorand L, Graham RM (2003) Transglutaminases: crosslinking enzymes with pleiotropic functions. Nat Rev Mol Cell Biol 4: 140–156

Lorand L (2005) Factor XIII and the clotting of fibrinogen: from basic research to medicine. J Thromb Haemost 3: 1337–1348

Lorenz R, Born P, Olbert P et al. (1995) Factor XIII substitution in ulcerative colitis. Lancet 345: 449–450

Lovejoy AE, Reynolds TC, Visich JE et al. (2006) Safety and pharmacokinetics of recombinant factor XIII-A2 administration in patients with congenital factor XIII deficiency. Blood 108: 57–62

McCormack LJ, Kain K, Catto AJ et al. (1998) Prevalence of FXIIIVal34Leu in populations with different cardiovascular risk. Thromb Haemost 80: 523–524

Meili EO (2002) Krankheitsbild und Behandlung des schweren homozygoten Faktor-XIII-Mangels. Hämostaseologie 22: 48–52

Mikkola H, Syrjälä M, Rasi V et al. (1994) Deficiency in the A-subunit of coagulation factor XIII: two novel point mutations demonstrate different effects on transcript levels. Blood 84: 517–525

Mosesson MW (2005) Fibrinogen and fibrin structure and functions. J Thromb Haemost 3: 1894–1904

Muszbek L, Ádány R, Mikkola H (1996) Novel aspects of blood coagulation factor XIII. I. Structure, distribution, activation, and function. Crit Rev Clin Lab Sci 33: 357–421

Noll T, Wozniak G, McCarson K et al. (1999) Effect of factor XIII on endothelial barrier function. J Exp Med 189: 1373–1382

Schroeder V, Meili E, Cung T et al. (2006) Characteristion of six novel A-subunit mutations leading to congenital factor XIII deficiency and molecular analysis of the first diagnosed patient with this rare bleeding disorder. Thromb Haemost 95: 77–84

Schroeder V, Vuissoz JM, Caflisch A et al. (2007) Factor XIII activation peptide is released into plasma upon cleavage by thrombin and shows a different structure compared to its bound form. Thromb Haemost 97: 890–898

Schwartz ML, Pizzo SV, Hill RL et al. (1971) The subunit structures of human plasma and platelet factor XIII (fibrin-stabilizing factor). J Biol Chem 246: 5851–5854

Siebenlist KR, Meh DA, Mosesson MW (1996) Plasma factor XIII binds specifically to fibrinogen molecules containing γ′ chains. Biochemistry 35: 10448–10453

Trumbo TA, Maurer MC (2000) Examining thrombin hydrolysis of the factor XIII activation peptide segment leads to a proposal for explaining the cardioprotective effects observed with the factor XIII V34L mutation. J Biochem 275: 20627–20631

Visich JE, Zuckerman LA, Butine MD et al. (2005) Safety and pharmacokinetics of recombinant factor XIII in healthy volunteers: a randomized, placebo-controlled, double-blind, multi-dose study. Thromb Haemost 94: 802–807

Vokó Z, Bereczky Z, Katona E et al. (2007) Factor XIIIVal34Leu variant protects against coronary artery disease. A meta-analysis. Thromb Haemost 97: 458–463

Webb GC, Coggan M, Ichinose A et al. (1989) Localization of the coagulation factor XIII B subunit gene (F13B) to chromosome bands 1q31–32.1 and restriction fragment length polymorphism at the locus. Hum Genet 81: 157–160

Weger M, Renner W, Stanger O et al. (2001) Role of factor XIII Val34Leu polymorphism in retinal artery occlusion. Stroke 32: 2759–2761

Wilmer M, Rudin K, Kolde HJ et al. (2001) Evaluation of a sensitive colorimetric FXIII incorporation assay. Effects of FXIII Val34Leu, plasma fibrinogen concentration and congenital FXIII deficiency. Thromb Res 102: 81–91

Wilmer M, Schröder V, Kohler HP (2002) Methoden zur Bestimmung des Faktors XIII/XIIIa. Hämostaseologie 22: 18–28

Yee VC, Pedersen LC, Le Trong I et al. (1994) Three-dimensional structure of a transglutaminase: Human blood coagulation factor XIII. Proc Natl Acad Sci USA 91: 7296–7300

Yee VC, Pedersen LC, Bishop PD et al. (1995) Structural evidence that the activation peptide is not released upon thrombin cleavage of factor XIII. Thromb Res 78: 389–397

Yorifuji H, Anderson K, Lynch GW et al. (1988) B protein of factor XIII: differentiation between free B and complexed B. Blood 72: 1645–1650

Zheng H, Tzeng CC, Butt C et al. (2002) An extremely low prevalence of factor V Leiden, FIIG20210A and FXIIIV34L in Taiwan Chinese population. Thromb Haemost 87: 1081–1082

# 23 Von-Willebrand-Faktor und ADAMTS13

*R. Schneppenheim, U. Budde*

## Einleitung

Der Von-Willebrand-Faktor (vWF) ist ein Adhäsivprotein, das nach einer Gefäßverletzung die Adhäsion von Thrombozyten an die verletzten Gefäßstrukturen vermittelt. Gleichzeitig dient er als Transportprotein für den plasmatischen Faktor VIII (FVIII). Der vWF wird in Endothelzellen synthetisiert und in spezifischen Zellorganellen, den Weibel-Palade-Körperchen, gespeichert. Von dort kann er durch Exozytose nach Stimulation durch Thrombin und andere Mediatoren freigesetzt werden. Unabhängig von dem in Weibel-Palade-Körperchen gespeicherten vWF wird vWF auch konstitutiv von Endothelzellen ins Plasma und die subendotheliale Matrix abgegeben. Neben den Endothelzellen sind Megakaryozyten die einzigen Zellen des menschlichen Körpers, die vWF synthetisieren können. Im Plasma zirkuliert der vWF in Form von Multimeren, die aus einer unterschiedlichen Anzahl einer einheitlichen Untereinheit aufgebaut sind. Die molekulare Größe der Multimere liegt zwischen 0,5–20.000 kDa.

## 23.1 Biosynthese

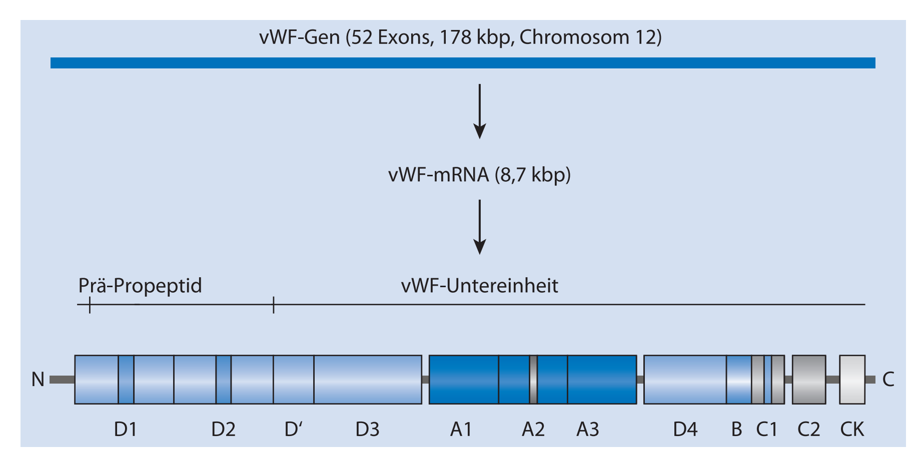
Die Synthese des vWF ist auf Endothelzellen und Megakaryozyten begrenzt (Piovella et al. 1974; Wagner 1986). Der von Megakaryozyten synthetisierte vWF wird in den α-Granula der Thrombozyten gespeichert und während der Thrombozytensekretion freigesetzt. Der von Endothelzellen synthetisierte vWF wird zum Teil kontinuierlich in das Plasma und in die subendotheliale Matrix abgegeben und zum Teil in speziellen Zellorganellen, den Weibel-Palade-Körperchen, gespeichert.

### 23.1.1 Molekulare Genetik

Das Gen des vWF ist am distalen Ende des kurzen Arms vom Chromosom 12 lokalisiert (12p13.3). Die 178 kbp verteilen sich auf 52 Exons und Introns. Die kodierende Sequenz enthält 8.439 Nukleotide (nt) für 2.813 Aminosäuren. Die sich wiederholenden homologen Regionen sind durch Genreplikation und Fusion während der Evolution entstanden. Kompliziert wird die Analyse des vWF-Gens durch die Existenz eines Pseudogens auf Chromosom 22. Es ist zu 97% homolog zu den Exons 24-34 des vWF-Gens. Für die molekulare Diagnostik mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) müssen daher für die spezifische Amplifikation Primer ausgewählt werden, die zwischen Pseudogen und Gen differenzieren.

### 23.1.2 Multimerbildung und zelluläres Processing

Der vWF ist modular aufgebaut und besitzt Kopien mehrerer Domänen in der Reihenfolge: D1-D2-D'-D3-A1-A2-A3-D4-B-C1-C2-CK (▫ Abb. 23.1). Die funktionellen Domänen besitzen bestimmte Bindungsstellen für lösliche und zelluläre Komponenten (de Wit et al. 2001). Die wichtigsten




▫ **Abb. 23.1.** Domänenstrukturen A–D des vWF-Moleküls, ausgehend vom vWF-Gen. *kbp* Kilobasenpaare, *mRNA* Messenger-RNA, *vWF* Von-Willebrand-Faktor

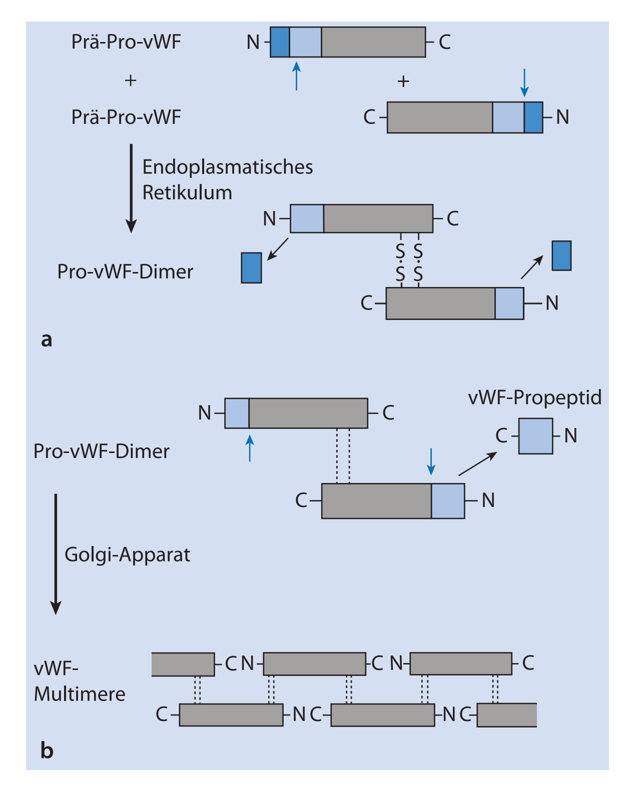



**Abb. 23.2a,b.** Intrazellulärer Syntheseweg des Von-Willebrand-Faktors. **a** Nach Transport zum endoplasmatischen Retikulum werden 2 Prä-Pro-von-Willebrand-Faktor-(vWF-)Moleküle durch Ausbildung von Sulfidbrücken (S-S) im C-terminalen Bereich dimerisiert. Dabei erfolgt die Abspaltung des Signalpeptids (schraffiertes Eck). **b** Die Ausbildung hochmolekularer Mulitmere findet im Golgi-Apparat durch N-terminale Verknüpfung mit gelichzeitiger Freisetzung des vWF-Pro-Peptids statt

sind Bindungsstellen für FVIII, Kollagen, Heparin sowie die Thrombozytenglykoproteine GP Ib und GP IIb-IIIa.

Die Synthese des vWF beginnt mit der Translation eines 2.813 Aminosäuren langen, einkettigen Proteins, dem Prä-Pro-vWF. Die Prä-Pro-vWF-Moleküle werden zum endoplasmatischen Retikulum transportiert. Dort erfolgt nach Abspaltung des Signalpeptids durch Ausbildung von Sulfidbrücken (Abb. 23.2) eine Verknüpfung zum Pro-vWF-Dimer.

Die Pro-vWF-Dimere werden zum Golgi-Apparat weitergeleitet. Im leicht sauren Milieu des Golgi-Apparats sind optimale Reaktionsbedingungen für die Bildung von Multimeren aus den Pro-vWF-Dimeren gegeben. Eingeleitet wird die Multimerbildung durch die wechselseitige Bindung der Propeptidregionen (D1-D2) von 2 Pro-vWF-Dimeren an die jeweiligen D‘-D3-Domänen. Anschließend erfolgt die Ausbildung von Sulfidbrücken zwischen den Cysteinen der D‘-D3 Domänen. Abhängig von der Anzahl der miteinander verknüpften Pro-vWF-Dimere entstehen Multimere mit einem Molekulargewicht (MG) zwischen 500 und mehr als 20.000 kDa.

Mit elektrophoretischen Methoden gelang bisher lediglich die Darstellung von vWF mit geschätzten Molekulargewichten von 10.000–20.000 kDa und von supranormalen Multimeren (MG: etwa 40.000 kDa). Erst spezielle elektronenmikroskopische Methoden und Messungen im Laserlicht unter verschiedenen Winkeln (»light scattering«) zeigen die wahre Größe dieses Moleküls. Es ließen sich vWF-Moleküle mit einer Länge von einigen Millimetern darstellen, für ein Glykoprotein eine gigantische Dimension. Dong et al. (2002) konnten im Elektronenmikroskop langgestreckte Moleküle mit anhaftenden Thrombozyten sichtbar machen. Shankaran et al. (2003) bewiesen mithilfe der Lichtbrechung von Laserstrahlen die Assoziation von kleineren Molekülen aus dem Plasma zu Riesenmolekülen mit mehr als $800 \times 10^6$ Da. Detergenzien, die für elektrophoretische Methoden gebraucht werden, brechen diese Moleküle zu wesentlich kleineren Einheiten auf.

Nach der Multimerbildung wird das Propeptid durch das Enzym Furin in Position Arg763-Ser764 abgespalten (van den Ven et al. 1990). Mutationen in dieser Spaltstelle führen zu einer inkompletten Abspaltung des Propeptids. Dadurch werden vWF-Multimere mit einer verminderten FVIII-Bindungsfähigkeit gebildet (Casonato et al. 2002; Hilbert et al. 2006).

Die Bildung der Weibel-Palade-Körperchen erfolgt in Endothelzellen aus dem Golgi-Apparat heraus und wird durch das Propeptid und den vWF induziert (Wagner 1990). In Endothelzellen von komplett vWF-defizienten Mäusen konnten keine Weibel-Palade-Körperchen nachgewiesen werden. Durch die Transfektion mit vWF konnte die Bildung von Weibel-Palade-Körperchen induziert werden. Demgegenüber ist die Bildung von α-Granula während der Megakaryo-/Thrombozytopoese nicht an das Vorhandensein von vWF gekoppelt.

### 23.1.3 Glykosylierung und andere posttranslationaleModifikationen

Der vWF ist ein hoch glykosyliertes Protein. Der Kohlenhydratanteil umfasst etwa 20% des Molekulargewichts. Die Aminosäuresequenz des vWF zeigt 12 N- und 10 O-Glykosylierungsstellen. Während die N-glykosidischen Seitenketten des vWF gleichmäßig über das gesamte vWF-Molekül verteilt sind, finden sich die O-glykosidischen Seitenketten vor allem im Bereich der A1-Domäne, in der die GP-Ib-Bindungsstelle zu finden ist. Trotz einer Reihe von offenen Fragen ist davon auszugehen, dass der Glykosylierungsprozess eine wichtige Rolle in der koordinierten Synthese und im plasmatischen Metabolismus des vWF spielt.

Der vWF gehört zu den wenigen Plasmaproteinen, die in ihrer Oligosaccharidstruktur die Blutgruppensubstanzen A, B und H beinhalten. Diese Blutgruppenmerkmale

sind auf den N-Seitenketten lokalisiert und haben wahrscheinlich einen direkten Einfluss auf die Plasmahalbwertszeit des vWF. Im Durchschnitt ist die vWF-Konzentration bei Trägern der Blutgruppe 0, verglichen mit den Trägern der anderen AB-Blutgruppenmerkmale, um etwa 25% niedriger (O´Donnell et al. 2005).

Wahrscheinlich haben die Blutgruppenantigene einen direkten Einfluss auf die Plasmahalbwertszeit des vWF und beeinflussen nicht die vWF-Syntheserate (O'Donnell et al. 2002). So wird die thrombozytäre vWF-Konzentration nur geringfügig durch den AB0-Blutgruppenstatus beeinflusst. Auch der nach 1-Desamino-8-D-Arginin-Vasopressin-(DDAVP-)Stimulation zu beobachtende vWF-Anstieg ist blutgruppenunabhängig. Demgegenüber war nach DDAVP-Stimulation von gesunden Probanden die vWF-Halbwertszeit bei Probanden mit der Blutgruppe 0 signifikant kürzer als bei den übrigen AB0-Blutgruppen (Gallinaro et al. 2007).

Ein weiteres Argument für eine unterschiedliche Plasmahalbwertszeit leitet sich aus der Ratio zwischen Propeptid und vWF-Antigen ab. Entsprechend dem Syntheseprozess werden das vWF-Propeptid und das vWF-Antigen in einer 1:1-Ratio ins Plasma freigesetzt. Patienten der Blutgruppe 0 haben, verglichen mit den übrigen AB-Blutgruppen, eine erhöhte Ratio. Unter der Annahme, dass die Plasmahalbwertszeit des vWF-Propeptids nicht durch AB-Blutgruppenmerkmale beeinflusst wird, kann daraus eine verkürzte Halbwertszeit des vWF für Träger der Blutgruppe 0 abgeleitet werden. Der Unterschied in der Halbwertszeit von vWF beträgt etwa 2 h.

Der blutgruppenspezifische Unterschied in der Plasmahalbwertszeit des vWF kann auch erklären, warum die Halbwertszeit von substitutierten FVIII-Konzentraten bei Hämophilie-A-Patienten blutgruppenabhängige Unterschiede aufweist. Die FVIII-Halbwertszeit wurde für Patienten mit der Blutgruppe 0 mit 11,5±2,6 h und für Patienten der übrigen AB-Blutgruppen mit 14,3±3 h ermittelt (Vlot et al. 2000). Für die Herstellung von rekombinanten vWF-Konzentraten sind diese Informationen wichtig, da – insbesondere dann, wenn ein vWF mit Bombay-Phänotyp hergestellt wird – die Halbwertszeit des Konzentrats niedrig sein kann.

Unabhängig von dem AB0-Blutgruppensystem können auch andere Blutgruppeneigenschaften die Plasmaspiegel des vWF beeinflussen. Gezeigt werden konnte dies für den Sekretorstatus. Träger der Blutgruppe 0 mit dem SeSe-Genotyp haben signifikant höhere vWF-Plasmaspiegel als Träger der Blutgruppe 0 mit Sese- oder sese-Genotyp (Nichtsekretorstatus). Die zugrunde liegenden Mechanismen sind unklar.

Wie bei den meisten anderen Glykoproteinen tragen auch die Oligosaccharidseitenketten des vWF Sialinsäurereste. Wahrscheinlich wird durch die Sialinisierung eine vorzeitige Klärung des vWF durch Bindung an karbohydratbindende Rezeptoren, zum Beispiel den Asialoglykoproteinrezeptor, verhindert. Eine Entfernung der Sialinsäurereste verkürzt die vWF-Plasmahalbwertszeit. Im Kaninchenmodell reduzierte sich die Halbwertszeit von 240 auf 5 min.

## 23.2 Sekretion

Der in Endothelzellen synthetisierte vWF wird über 2 Mechanismen freigesetzt. Zum einen wird er kontinuierlich ins Plasma und in die subendotheliale Matrix abgegeben, zum anderen erfolgt eine stimulierte Freisetzung aus den Weibel-Palade-Körperchen. Die dazu erforderliche Endothelzellaktivierung kann über unterschiedliche intrazelluläre Signaltransduktionswege erfolgen.

Mediatoren wie Thrombin, Histamin, Zytokine und vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor (VEGF) stimulieren die vWF-Sekretion durch eine Erhöhung der zytosolischen Kalziumkonzentration (Abb. 23.3). Eine zweite Kategorie von Mediatoren, zu denen vasoaktive Hormone wie Epinephrin und Vasopressin gehören, stimuliert die vWF-Freisetzung, indem sie einen Anstieg in der Konzentration an zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP)

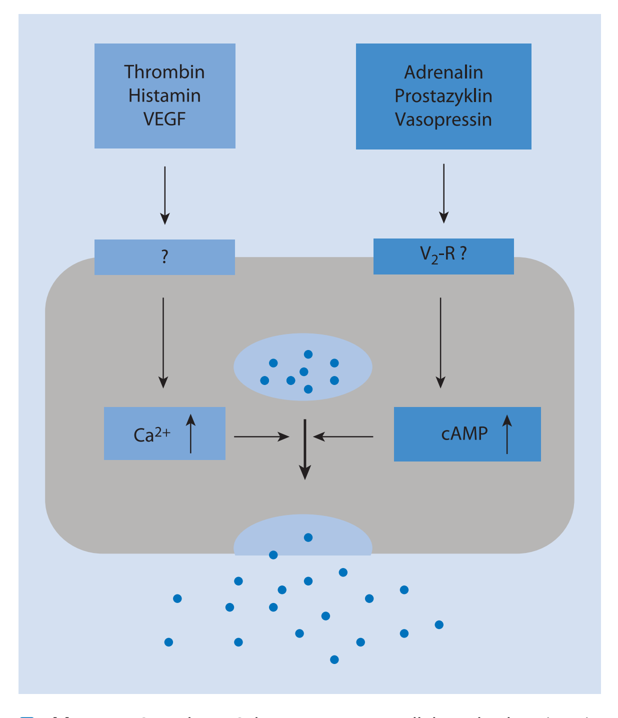



**Abb. 23.3.** Stimulierte Sekretion von Von-Willebrand-Faktor (vWF). Der in den Weibel-Palade-Körperchen gespeicherte vWF kann über 2 unterschiedliche Signaltransduktionswege freigesetzt werden. *VEGF* vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor; *cAMP* zyklisches Adenosinmonophosphat; *$V_2$-R* Vasopressinrezeptor

induziert. Wahrscheinlich ist der V2-Rezeptor in diese stimulierte Freisetzung eingebunden.

Auch durch Hypoxie und hohe Scherkräfte kann im Zellkulturmodell die Freisetzung von vWF stimuliert werden. Therapeutisch wird die DDAVP-stimulierte Freisetzung von vWF mit einem konsekutiven Anstieg der FVIII-Aktivität in der Therapie der Von-Willebrand-Erkrankung und der Hämophilie A genutzt.

Auch eine Hemmung der zur vWF-Sekretion führenden Endothelzellaktivierung ist möglich. Es konnte gezeigt werden, dass Stickstoffmonoxid (NO) die stimulierte Freisetzung von vWF aus den Weibel-Palade-Körperchen hemmt, wahrscheinlich, weil es die Aktivität von verschiedenen Membranfusionsproteinen, zu denen auch das N-Ethyl-Maleimid-sensitive Protein gehört, hemmen kann. Eine Wirkung über den cGMP-Pathway (cGMP: zyklisches Guanosinmonophosphat) erscheint eher unwahrscheinlich.

Aufgrund der Eigenschaften von aktivierten Endothelzellen, vWF verstärkt zu sezernieren, werden erhöhte Plasmaspiegel an vWF auch als möglicher Biomarker einer endothelialen Dysfunktion diskutiert. In verschiedenen Studien bei kardiovaskulären Erkrankungen wird die vWF-Konzentration deswegen auch bereits als Surrogatmarker für die Gefäßfunktion eingesetzt. Die Wertigkeit des »vaskulären Biomarkers« vWF wird jedoch durch erhebliche intraindividuelle Konzentrationsschwankungen eingeschränkt, die auch beim Gesunden auftreten können.

## 23.3 Plasmatische Prozessierung

Die Größe der vWF-Multimere wird im Plasma proteolytisch reguliert. Das wichtigste vWF-spaltende Enzym ist die ADAMTS13, die zur Proteinfamilie der ADAMTS-Proteine (»a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin motif«) gehört (siehe unten). Besonders die hochmolekularen vWF-Multimere ($>10\times10^6$), die eine spontane Thrombozytenagglutination induzieren können, werden unmittelbar nach der Sezernierung, wahrscheinlich an der Endothelzelloberfläche, durch ADAMTS13-Proteolyse verkleinert. Eine Störung dieser ADAMTS13-vermittelten Prozessierung der hochmolekularen Multimere spielt in der Pathogenese der thrombotisch thrombozytopenischen Purpura eine wichtige Rolle.

Die Funktion von ADAMTS13 hat keinen Einfluss auf die Plasmahalbwertszeit des vWF. Untersuchungen zur Halbwertszeit von vWF nach DDAVP-Stimulation und bei Patienten mit einer Von-Willebrand-Erkrankung Typ I oder einer Hämophilie A haben gezeigt, dass keine Korrelation zwischen der ADAMTS13-Aktivität und der Plasmahalbwertszeit des vWF besteht.

## 23.4 Funktionen des vWF

### 23.4.1 Interaktion mit Thrombozyten und Kollagen

In der A1-Domäne des vWF-Moleküls ist eine hochaffine Bindungsstelle für den thrombozytären Glykoproteinrezeptor Ib-IX (GP Ib-IX) lokalisiert. Dass der im Plasma zirkulierende vWF trotzdem nicht an die Thrombozytenmembran bindet und dadurch eine Thrombozytenagglutination induziert, liegt an der globulären Konformation des Moleküls. Dadurch sind die GP-Ib-Bindungsstellen intramolekular so ausgerichtet, dass sie die GP-Ib-IX-Rezeptoren nicht erreichen können.

Nach einer Gefäßverletzung bindet der im Plasma zirkulierende vWF an die freigelegten Kollagenfibrillen. Ausgelöst durch diese Bindung und unter dem Einfluss von hohen Scherkräften kommt es zu einer Auffaltung des vWF-Moleküls. Die GP-Ib-IX-Bindungsstellen werden für die Thrombozytenrezeptoren zugänglich, und die Thrombozyten adhärieren. Eine wichtige Rolle in der Adhäsionsreaktion spielt die molekulare Größe des vWF.

Für eine normale primäre Hämostase wird voll multimerisierter vWF benötigt, da bei Fehlen der großen Multimere die Bindung an einen Rezeptor ungehindert vonstatten geht, aber die Brückenbildung zwischen dem verletzten Endothel und den Thrombozyten nicht erfolgen kann. Bei großen Mengen an defektem vWF wird daher eine Blockade des Rezeptors beobachtet, die nur durch große Mengen an normalem vWF aufzuheben ist (Abb. 23.4).

In vitro kann die Interaktion von vWF mit GP Ib-IX durch das Antibiotikum Ristocetin induziert werden. Ristocetin verändert die Ladungseigenschaften des vWF und des GP-Ib-IX-Komplexes so, dass es zu einer Agglutination mit den Thrombozyten kommen kann.

Eine Bindung des vWF ist auch an den als primären Fibrinogen-/Fibrin-Rezeptor fungierenden Glykoprotein-IIb-IIIa-Komplex möglich. Diese Bindung erfolgt über die in der C1-Domäne des vWF-Moleküls lokalisierte Aminosäuresequenz RGDS und kann genauso wie die Fibrinogen-/Fibrin-Bindung eine Thrombozytenaktivierung induzieren. Im Vergleich zu Fibrinogen/Fibrin ist die Bindung von vWF an GP IIb-IIIa aber weniger affin.

### 23.4.2 Transportprotein für Faktor VIII und Osteoprotegerin

Im Blut ist der größte Teil des FVIII an vWF gebunden, wobei zwischen freiem und gebundenem FVIII ein Gleichgewicht besteht. Der gebundene Anteil beträgt konstant ca. 95% des zirkulierenden FVIII. Bei fehlendem vWF (Typ 3) resultiert daher ein FVIII-Spiegel von 1–5%. Die

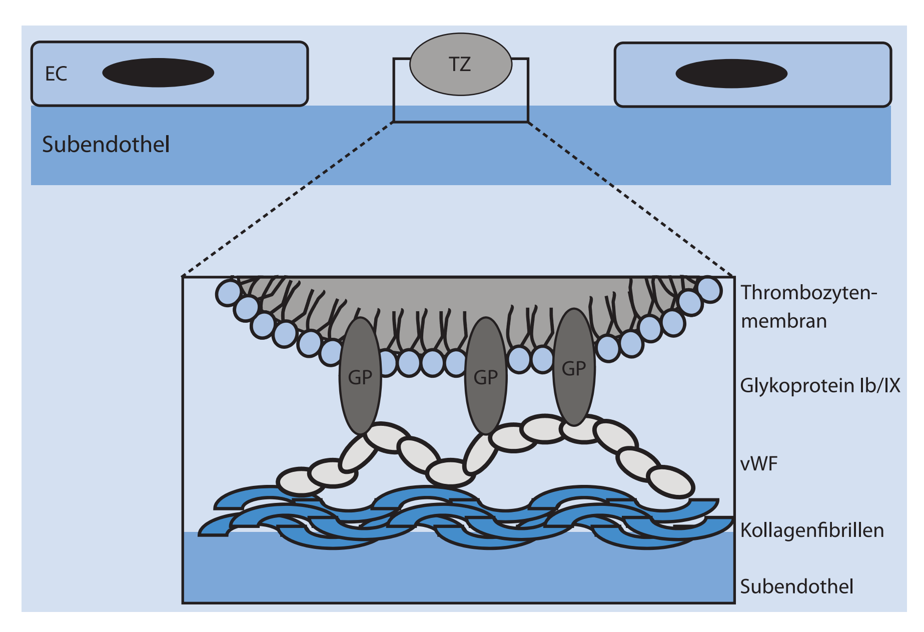



**Abb. 23.4.** Schematische Darstellung der Interaktion zwischen Kollagen, Von-Willebrand-Faktor und GP Ib-IX. EC Endothezellen; *GP* Glykoprotein; TZ Thrombozyten; *vWF* Von-Willebrand-Faktor

FVIII-Bindungsregion des vWF liegt in der D'-Domäne. Theoretisch kann jedes Monomer eines vWF-Multimers ein FVIII-Molekül binden. Im Blut sind jedoch nur etwa 2% dieser Bindungsstellen mit FVIII besetzt. Solange der FVIII an vWF gebunden ist, besteht ein Schutz vor proteolytischem Abbau. Während gebundener FVIII eine Halbwertszeit von 12–14 h hat, beträgt sie ohne vWF lediglich 3 h. VWF-Konzentrationen unter 30% können den FVIII nicht mehr effektiv stabilisieren, und sowohl beim Typ-1- als auch beim Typ-2-Mangel kommt es zu einer Störung der primären und sekundären Hämostase. Die fehlende oder stark verminderte FVIII-Bindungskapazität des vWF führt zu einer Hämophilie-A-ähnlichen hämorrhagischen Diathese.

Ein weiteres Molekül, das den vWF als Transportprotein nutzt, ist Osteoprotegerin. Dieses Protein wird zusammen mit vWF in Endothelzellen exprimiert und bereits komplexiert an den vWF ins Plasma abgegeben. Osteoprotegerin wurde 1997 erstmalig als ein Protein beschrieben (Simonet et al. 1997), das eine regulatorische Funktion im Knochenstoffwechsel hat und dem auch eine Rolle im Endothelzellstoffwechsel und in der Prävention der Atherosklerose zugeschrieben wird. Es gehört zur Familie der Tumornekrosefaktorrezeptoren. Die physiologische Verbindung zwischen vWF und Osteoprotegerin ist unklar.

## 23.5 Abbaumechanismen

Bisher sind keine Daten über mögliche zelluläre Abbaumechanismen des vWF bekannt. In einem Mausmodell mit komplettem vWF-Mangel konnte gezeigt werden, dass nach vWF-Injektion ein Großteil des Proteins in der Leber zu finden ist. Weiterhin fand sich eine Akkumulation von vWF in der Niere und der Milz. Die an der Aufnahme des vWF involvierten Zelltypen sind nicht eindeutig identifiziert. Einige Daten sprechen dafür, dass Makrophagen in der Milz und in der Leber wesentlich an der Endozytose von vWF beteiligt sind (van Schooten et al. 2007).

## 23.6 ADAMTS13

### 23.6.1 Einleitung

Eli Moschcowitz beschrieb 1924 den rasch tödlichen Verlauf einer thrombotischen Erkrankung bei einem 16-jährigen Mädchen, das unter dem Bild eines Multiorganversagens verstarb. Er beschrieb auch die bei der Autopsie entdeckten disseminierten Thromben in den kleinsten Blutgefäßen. Amorosi und Ultmann (1966) publizierten 16 neue Patientenkasuistiken sowie 255 Fälle aus der Literatur. Die von ihnen herausgearbeitete Pentade an klinischen Symptomen, bestehend aus Thrombozytopenie, Coombs-negativer hämolytischer Anämie, Fieber, zerebralen Symptomen und Nierenbeteiligung, wurde für die Diagnose thrombotisch-thrombozytopenische Purpura (TTP) ein wichtiges Kriterium. Die extreme Variabilität der Krankheitsverläufe wurde damals als ein weiteres Charakteristikum der TTP herausgestellt. Erstmals in den 1970er-Jahren konnten durch Plasmamanipulation (Plasmasubstitution, vor allem aber Plas-

maaustausch) eindeutige Heilerfolge erzielt werden, wobei die Letalität von >90% auf <70% sank.

Die Beobachtung von supranormalen Multimeren in der Zirkulation von Patienten mit chronisch rezidivierender TTP (Moake et al. 1982) ergab erste Hinweise auf einen Mangel einer hypothetischen, vWF-spaltenden Protease. Obwohl die Suche nach dieser Protease sofort einsetzte, war sie erst 14 Jahre später von Erfolg gekrönt. Damals konnten unabhängig voneinander Furlan et al. (1996) und Tsai die Protease (1996) reinigen und Tests zum Nachweis der Protease entwickeln.

Nachdem es möglich war, die Aktivität der Protease zu messen, konnten die weiteren logischen Schritte rasch angegangen werden. Aufklärung der Aminosäurenstruktur der Protease (Zheng et al. 2001), Identifikation des Gens (Levy et al. 2001) und der Wirkungsweise der Protease folgten rasch, sodass 2001 die Protease als Metalloprotease charakterisiert wurde, die zur ADAMTS-Familie gehört und den Namen ADAMTS13 bekommen hat.

Zwischen der im Plasma messbaren ADAMTS13-Aktivität und der Ausbildung einer TTP besteht keine eindeutige Korrelation. Eine stark erniedrigte ADAMTS13-Aktivität geht nicht zwangläufig mit einer TTP einher und ein nicht unbeträchtlicher Anteil der TTP-Patienten zeigt keinen schweren ADAMTS13-Mangel, nicht selten liegen die Aktivitäten sogar im Normbereich.

### 23.6.2 Funktion

Aufgabe von ADAMTS13 ist die Regulierung der vWF-Multimergröße nach Sekretion des vWF aus Endothelzellen (Abb. 23.5). Eine Verminderung der Proteaseaktivität auf <10% bzw. deren völliges Fehlen führt zur Persistenz supranormaler Multimere, welche besonders reagibel sind. Die für diese Reaktion notwendigen Bindungspartner und der exakte Ablauf der proteolytischen Prozesse sind derzeit noch hypothetisch. Ein möglicher Mechanismus ist, dass der aus den Weibel-Palade-Körperchen sekretierte supranormale vWF an P-Selektin bindet, das zusammen mit dem vWF sekretiert wird, jedoch durch seinen transmembranen Anteil auf der Oberfläche des Endothels verbleibt (Padilla et al. 2004).

Der supranormale vWF hat eine veränderte Konformation mit exponierter A3-Domäne, an die ADAMTS13 mittels der CUB-Domäne (und einer oder mehrerer Thrombospondin-1-Domänen) bindet. Anschließend spaltet die gebundene Protease in der benachbarten A2-Domäne die Bindung Tyr842-Met843. Die Spaltung endet erst, wenn der verbleibende vWF unter normalen Bedingungen (Scherstress) nicht mehr reaktiv ist. Der prozessierte vWF kann erst wieder in die primäre Hämostase eingreifen, wenn er unter pathologischen Bedingungen (Verletzung) aktiviert worden ist.

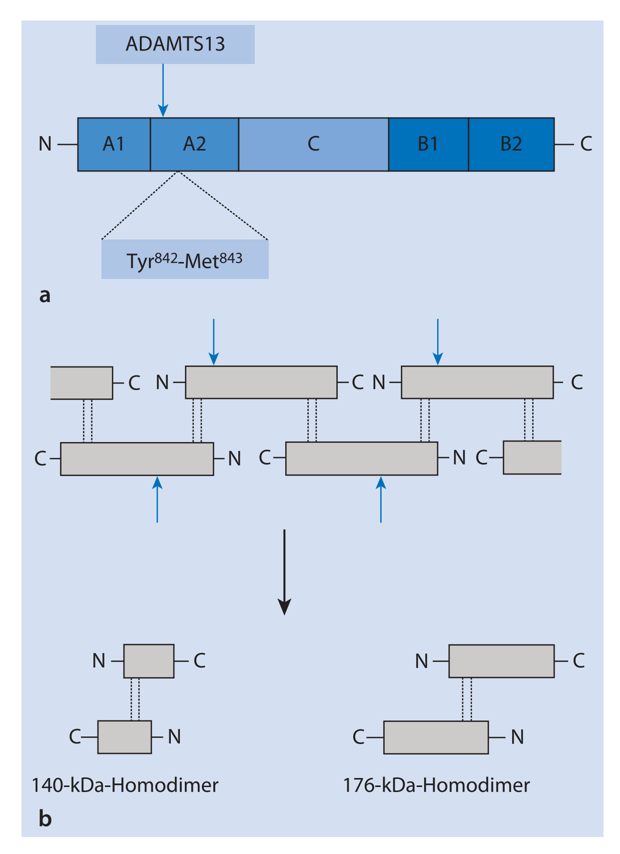



**Abb. 23.5a,b.** Schematische Darstellung der ADAMTS13-Prozessierung der vWF-Multimere. **a** Die ADAMTS13-Spaltstelle ist in der A2-Untereinheit des vWF lokalisiert. **b** Unter der ADAMTS13-Wirkung entstehen aus den hochmolekularen vWF-Mulitmeren 140 und 176 kDa große Homodimere. *Blaue Pfeile* ADAMTS13-Spaltstelle; *vWF* Von-Willebrand-Faktor

Auch nach der Sekretion des vWF ist ADAMTS13 in der Lage die Multimergröße zu regulieren. Hier sind es vor allem Thrombozyten-vWF-Komplexe, die unter Scherstress als Substrat für ADAMTS13 dienen (Shim et al. 2008). Bisher ist lediglich der vWF als Substrat für ADAMTS13 identifiziert (Cauhan et al. 2008).

Der vWF verhält sich wie ein Akute-Phase-Protein. Daher kann eine vermehrte Ausschüttung aus Endothelzellen während der Schwangerschaft, im Rahmen von Infektionen oder sonstigen entzündlichen Vorgängen bei Personen mit einem angeborenen oder erworbenen Fehlen der ADAMTS13-Aktivität die Bildung von Thromben in der Mikrozirkulation triggern und so eine TTP auslösen. Die Rolle von ADAMTS13 bei anderen thrombotischen Erkrankungen ist bisher weitgehend unklar, wenn auch ein erster Bericht über eine mögliche Assoziation von niedriger ADAMTS13-Aktivität und Herzattacken erschienen ist (Crawley et al. 2008). Ebenso unklar ist die Rolle von ADAMTS13 bei der Sepsis (Bockmeyer et al. 2008; Cauhan et al. 2008).

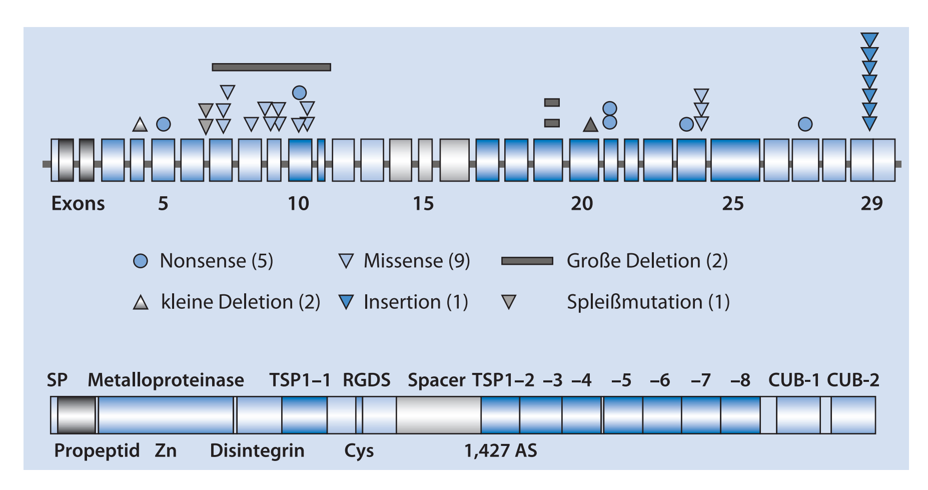



**Abb. 23.6.** Genstruktur und Domänenstruktur (*Großbuchstaben, Ziffern*) von ADAMTS13 mit dem Mutationsspektrum der hereditären TTP in Deutschland. *AS* Aminosäure

## 23.6.3 Molekulare Genetik

Das ADAMTS13-Gen ist auf dem langen Arm von Chromosom 9 (9q34) lokalisiert. Die genomische DNA hat eine Größe von 37 kbp. Die kodierende Sequenz besteht aus 29 Exons mit einem offenen Leserahmen von 4.281 bp. Die Gensequenz besteht aus dem Signalpeptid von 33 Aminosäuren, einem Propeptid von 41 Aminosäuren und der eigentlichen Metalloproteasendomäne, einer Disintegrindomäne, einer cysteinreichen Domäne mit einer RGDS-Sequenz, einem Spacer und 8 Thrombospondin-1-ähnlichen Motiven sowie 2 sogenannten CUB-Domänen, die innerhalb der ADAMTS-Familie bisher einzigartig sind (Abb. 23.6).

Die Aufklärung gelang 3 Arbeitsgruppen durch Isolierung und Reinigung der Protease und durch Peptidsequenzierung (Zheng et al. 2001) und einer 4. Arbeitsgruppe über eine Kopplungsanalyse von Familien mit hereditärer TTP sowie den Nachweis spezifischer Mutationen des ADAMTS13-Gens (Levy et al. 2001). Die anschließend charkterisierten Gendefekte bei Familien mit Upshaw-Schulman-Syndrom wurden in den meisten Fällen als compound-heterozygote ADAMTS13-Mutationen vererbt und nur in wenigen konsanguinen Familien fand sich Homozygotie. Dies spricht für eine ausgeprägte Heterogenität des Mutationsspektrums.

Das heute bekannte Mutationsspektrum umfasst neben einem hohen Anteil von Missense-Mutationen viele trunkierende Mutationen und u. a. auch Mutationen, die mit völligem Fehlen eines funtionierenden ADAMTS13-Moleküls einhergehen (z. B. eine von uns entdeckte Compound-Heterozygotie für eine große ADAMTS13-Deletion, welche die Exons 7–11 einschließt, und eine Leserastermutation (334delG) im Exon 4. Dies bedeutet, dass auch das völlige Fehlen von ADAMTS13 mit dem Leben vereinbar ist, wenn auch der Verlauf der Erkrankung hier besonders schwer ist (Schneppenheim et al. 2002; Kokame u. Miyata 2004). Die Patienten können nur mit regelmäßigen Plasmatransfusionen vor Rezidiven der TTP geschützt werden.

Die Gendiagnostik ist ein wichtiges Werkzeug zur Differenzierung zwischen der erworbenen, autoantikörpervermittelten TTP und der hereditären Form. Die Differenzierung zwischen beiden Formen ist wegen der unterschiedlichen Therapieansätze für die Patienten von herausragender Bedeutung.

## Literatur


Amorosi EL, Ultmann JE (1966) Thrombotic thrombocytopenic purpura: Report of 16 cases and review of the literature. Medicine 45: 139–159

Bierings R, van den Biggelaar M, Kragt A et al. (2007) Efficiency of von Willebrand factor-mediated targeting of IL-8 into Weibel-Palade bodies. J Thromb Haemost 5: 2512–2519

Bockmeyer CL, Claus RA, Budde U et al. (2008) Inflammation associated ADAMTS13 deficiency promotes formation of ultra-large von Willebrand factor. Haematologica 93: 137–140

Casonato A, Pontara E, Sartorello F et al. (2002) Reduced von Willebrand factor survival in type Vicenza von Willebrand disease. Blood 99: 180–184

Cauhan AK, Walsh MT, Ginsburg D et al. (2008) The combined roles of ADAMTS13 and VWF in murine models of TTP, endotoxemia, and thrombosis. Blood 111: 3452–3457

Crawley JTB, Lane DA, Woodward M et al. (2008) Evidence that high von Willebrand factor and low ADAMTS-13 levels independently increase the risk of a non-fatal heart attack. J Thromb Haemost 6: 583–588

de Wit TR, van Mourik JA (2001) Biosynthesis, processing and secretion of von Willebrand factor: biological implications. Best Pract Res Clin Haematol 14(2): 241–55

Dong J, Ye P, Schade AJ, Gao S, Romo GM, Turner NT, McIntire LV, López JA (2001) Tyrosine sulfation of glycoprotein I(b)alpha. Role of electrostatic interactions in von Willebrand factor binding. J Biol Chem 276(20): 16690–4

Furlan M, Robles R, Lämmle B (1996) Partial purification and characterization of a protease from human plasma cleaving von Willebrand factor to fragments produced by in vivo proteolysis. Blood 87: 4223–4234

Gallinaro L, Cattini MG, Bertomoro A et al. (2007) How AB0 blood group affect von Willebrand factor levels in normal subjects. J Thromb Haemost 5 (Suppl.1): P-T200

Haberichter SL, Balistreri M, Christopherson P et al. (2006) Assay of the von Willebrand factor (vWF) propeptide to identify patients with type 1 von Willebrand disease with decreased vWF survival. Blood 108: 3344–3351

Hilbert L, Nurden P,Caron C et al. (2006) Type 2N von Willebrand disease due to compound heterozygosity for R854Q and a novel R763G mutation at the cleavage site of von Willebrand factor propeptide. Thromb Haemost 96: 290–294

Keeney S, Cumming AM (2001) The molecular biology of von Willebrand disease. Clin Lab Haematol 23: 209–230

Kokame K, Miyata T (2004) Genetic defects leading to hereditary thrombotic thrombocytopenic purpura. Semin Hematol 41: 34–40

Levy GG, Nichols WC, Lian EC et al. (2001) Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. Nature 413: 488–494

Moake JL, Rudy CK, Troll JH et al. (1982) Unusually large plasma factor VIII:von Willebrand factor multimers in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. N Engl J Med 307: 1432–1435

Moschcowitz E (1924) Hyaline thrombosis of the terminal arterioles and capillaries: a hitherto undescribed disease. Proc N Y Pathol Soc 24: 21–24

Nossent AY, van Marion V, van Tilburg NH et al. (2006) von Willebrand factor and its propeptide : the influence of secretion and clearance on protein levels and the risk of venous thrombosis. J Thromb Haemost 4: 2556–2562

O´Donnell J, Boulton FE, Manning RA et al. (2002) Amount of H antigen expressed on circulating von Willebrand factor is modified by AB0 blood group genotype and is a major determinant of plasma von Willebrand factor antigen levels. Arterioscler Thromb Vasc Biol 22: 335–341

O´Donnell J, McKinnon TA, Crawley JT et al. (2005) Bombay phenotype is associated with reduced plasma-vWF levels and an increased susceptibility to ADAMTS13 proteolysis. Blood 106: 1988–1991

Padilla A, Moake JL, Bernardo A et al. (2004) P-Selectin anchors newly released ultralarge von Willebrand factor multimers to the endothelial surface. Blood 103: 2150–2156

Piovella F, Ascari E, Sitar GM et al. (1974) Immunofluorescent detection of factor VIII-related antigen in human platelets and megakaryocytes. Hemostasis 3: 288–295

Pruthi RP (2006) A practical approach to genetic testing for von Willebrand disease. Mayo Clin Proc 81: 679–691

Schneppenheim R, Budde U, Oyen F et al. (2002) Von Willebrand factor cleaving protease and ADAMTS13 mutations in childhood TTP. Blood 101: 1845–1850

Shahbazi S, Lenting PJ, Fribourg C et al. (2007) Characterization of the interaction between von Willebrand factor and osteoprotegerin. J Thromb Haemost 5: 1956–1962

Shankaran H, Neelamegham S (2004) Hydrodynamic forces applied on intercellular bonds, soluble molecules, and cell-surface receptors. Biophys J 86: 576–88

Shim K, Anderson PJ, Tuley EA et al. (2008) Platelet-VWF complexes are preferred substrates of ADAMTS13 under fluid shear stress. Blood 111: 651–657

Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR et al. (1997) Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. Cell 89: 309–319

Tsai HM (1996) Physiologic cleavage of von Willebrand factor by a plasma protease is dependent on its conformation and requires calcium ion. Blood 87: 4235–4244

van den Ven WJ, Voorberg J, Fontijn R et al. (1990) Furin is a subtilisin-like proprotein processing enzyme in higher eukaryotes. Mol Biol Rep 14: 265–275

van Schooten CJ, Denis CV, Oortwijn BD et al. (2007) Liver and spleen macrophages contribute to the clearance of von Willebrand factor and its complex with factor VIII. J Thromb Haemost 5 (Suppl.1): O-W-017

Vlot AJ, Mauser-Bunschoten EP, Zarkova AG et al. (2000) The half-life of infused factor VIII is shorter in hemophiliac patients with blood group 0 than in those with blood group A. Thromb Haemost 2000; 83: 65–69

Wagner DD (1986) Cell biology of von Willebrand factor. Annu Rev Cell Biol 6: 217–246

Zheng X, Chung D, Takayama TK et al. (2001) Structure of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13), a metalloprotease involved in thrombotic thrombocytopenic purpura. J Biol Chem 276: 41059–41063

# 24 Phospholipide und phospholipidbindende Proteine

*W. Schößler*

24

## Einleitung

Phospholipide gehören zur Familie der Membranlipide und bilden den Hauptbestandteil der zellulären Doppelmembran. Ihre spezifischen physikochemischen Eigenschaften erhalten sie durch einen hydrophilen Kopf- und einen lipophilen Schwanzteil. In den enzymatischen Gerinnungsreaktionen fungieren Phospholipide als reaktive Oberflächen und ermöglichen die Ausbildung der Multienzymkomplexe. Eine gestörte Interaktion einzelner Gerinnungsfaktoren mit Phospholipiden kann den Gerinnungsprozess inhibieren.

## 24.1 Phospholipide

### 24.1.1 Struktur der Phospholipide

Phospholipide sind verschiedene anionische und neutrale phosphorhaltige Lipide. Sie gehören zur Familie der Membranlipide und bilden den Hauptbestandteil der Doppelmembran von Zellen, der Zellmembran. Sie kommen in allen tierischen und pflanzlichen Zellen, vor allem im Gehirn, im Herz, in der Leber, im Blut und Liquor, im Eidotter sowie in der Sojabohne vor.

Phospholipide bestehen aus einem Glyzerolgrundgerüst, an dem zum einen über 2 Esterbindungen Fettsäuren und zum anderen über 1 Phosphosäurerest unterschiedliche Liganden gebunden sind (Abb. 24.1).

Die wichtigsten Phospholipide sind:

- Kardiolipin (Diphosphatidylglyzerol)
- Phosphatidylserin
- Phosphatidsäure
- Phospatidylinositol
- Phosphatidylcholin (Lezithin)
- Phosphatidylethanolamin

Diese Nomenklatur entspricht nicht den Regeln der International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) für Phospholipide, sondern folgt den international üblichen und etablierten Kurzbezeichnungen (IUPAC 1977).

Die Struktur des am meisten bekannten und für die Diagnostik des Antiphospholipidsyndroms wichtigsten Phospholipids – des Kardiolipins – ist zur besseren Veranschaulichung nochmals vollständig in Abb. 24.2 dargestellt.

Die hier schematisch angezeigten ungesättigten Fettsäuren können abhängig von den einzelnen Lipiden variieren, sodass es von jedem Phospholipid eine ganze Familie an Lipiden gibt, die sich in ihren Fettsäureresten unterscheiden. Die verbreitetsten Fettsäuren sind C16-, C18- oder C20-Fettsäuren. Neben den gesättigten Fettsäuren wie der Palmitin- und Stearinsäure sind vor allem die Öl-, Linol-, Linolen- und Arachidonsäure zu nennen. Die Fettsäureseitenketten sind mit hoher Wahrscheinlichkeit das antigene Target der Antiphospholipidantikörper (Levy et al. 1990).

Phospholipide sind amphiphil, d. h. sie bestehen aus 1 hydrophilen Kopf und aus mindestens 2 hydrophoben Schwänzen (Abb. 24.3). Dadurch weisen sie eine für ihre Funktion ganz wesentliche Eigenschaft auf; sie sind lipophil und hydrophil zugleich. Dadurch ist es den Phospholipiden möglich, Grenzschichten zwischen wässrigen und fetthaltigen Lösungen auszubilden.

## 24.2 Funktion von Phospholipiden

Zellmembranen bestehen aus Proteinen und Lipiden, wobei den Proteinen vorzugsweise eine funktionelle Bedeutung zukommt. Lipide sind im Wesentlichen für die grundlegenden Eigenschaften einer Zellmembran wie Erhaltung der Stabilität, Gewährleistung einer Flexibilität, Semipermeabilität, Kommunikation mit der Zellaußenwelt, Fluidität sowie Verankerung von Rezeptoren, Ionenkanälen, Adhäsionsmolekülen etc. verantwortlich.

Aufgrund der amphiphilen Eigenschaften der Phospholipide bilden diese in wässrigem Milieu Strukturen aus. In Abhängigkeit von dem jeweiligen Phospholipid können dies Mizellen, Lipiddoppelschichten (Phosphatidylserin, Phosphatidylcholin) oder hexagonale Strukturen sein (Phosphatidylethanolamin, $Ca^{2+}$-Salze von Kardiolipin; Rauch et al. 1989). Hierbei ist bemerkenswert, dass die polaren Kopfgruppen der Phospholipide eine unterschiedliche Orientierung aufweisen (Abb. 24.4).

In allen dargestellten Packungsformen gibt es also 2 unterschiedliche Bereiche: den *hydrophilen* Bereich mit den ionischen Gruppen, der im Kontakt mit der wässrigen Umgebung steht, und den *hydrophoben* Bereich, der durch die Fettsäuren gebildet wird.

Die in derartigen polymorphen Phasen vorliegenden Phospholipide können in 2 verschiedenen Zuständen vorliegen: als kristalline Phase (Gelzustand, feste Phase), in der die Fettsäureketten gestreckt angeordnet sind, und als flüssig-kristalline Phase, in der die einzelnen Moleküle in der Ebene der Doppelschicht relativ frei beweglich sind. Der Übergang zwischen diesen beiden Phasen ist temperaturabhängig. Die sog. Übergangstemperatur ist abhängig von der Länge der Kohlenwasserstoffkette, der Zahl der Dop-

**Abb. 24.1.** Struktur der Phospholipide



**Abb. 24.2.** Struktur des Kardiolipins

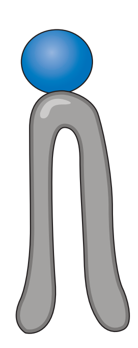


Abb. 24.3. Schematische Darstellung der amphiphilen Eigenschaften von Phospholipiden. Hierbei symbolisieren der hydrophile Kopf das Glyzerolgrundgerüst mit den entsprechenden Liganden gemäß Abb. 24.1 und die hydrophoben Schwänze die Fettsäureseitenketten

pelbindungen, der Natur der Kopfgruppe und dem Wassergehalt des Systems. Sie ist somit für jedes Phospholipid charakteristisch.

Membranlipide einer Zelle befinden sich offensichtlich immer im flüssig-kristallinen Zustand. Dadurch wird die Fluidität der Zellmembran gewährleistet. In diesem Zustand können die Lipide 2 Bewegungen ausführen: eine relativ schnelle laterale Bewegung ($\sim 10^{-6}$ s), bei der die Phospholipide in der gleichen Ebene ausgetauscht werden, und eine sehr langsame ($\sim 10^{5}$ s) transversale Bewegung (Flipflop-Mechanismus), bei der die Phospholipide von einer Membranoberfläche zur anderen wandern (Abb. 24.5, nach Stryer 1991). Obwohl es Einwände verschiedener Autoren gegen dieses Modell gibt, scheint dieser Flipflop-Mechanismus von großer Bedeutung für die Semipermeabilität von Doppelmembranen zu sein. Sie stellen eine Diffusionsbarriere für Ionen und größere Moleküle dar, lassen jedoch Wasser und kleine Moleküle passieren.

Phospholipide sind für die Aktivierung des Gerinnungssystems von großer Bedeutung. Bei einer Endothelzellläsion kommt es zu einer Adhäsion und nachfolgenden Aktivierung von Thrombozyten, in deren Folge neben der Freisetzung von Adenosindiphosphat (ADP), Serotonin und anderen Mediatoren Phospholipide (z. B. Plättchenfaktor 3) freigesetzt werden (▶ Kap. 6). Dadurch wird eine Lokalisation des Gerinnungsprozesses erzielt und eine systemische Gerinnungsaktivierung vermieden.

Daneben kommt den Phospholipiden eine weitere wichtige Funktion zu. Durch die Bindung der ebenfalls negativ geladenen Gerinnungsfaktoren über $Ca^{2+}$-Brücken an die anionischen Phospholipide sowohl der adhärierten Thrombozyten als auch verletzter Endothelzellen wird eine

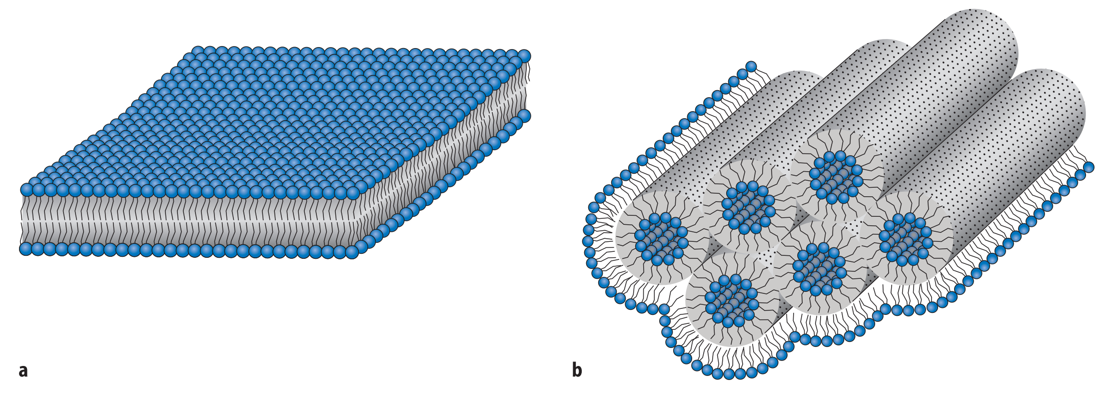



Abb. 24.4a,b. Strukturen der Phospholipid-Wasser-Wechselwirkung. **a** Lipiddoppelschicht, **b** hexagonale Phase

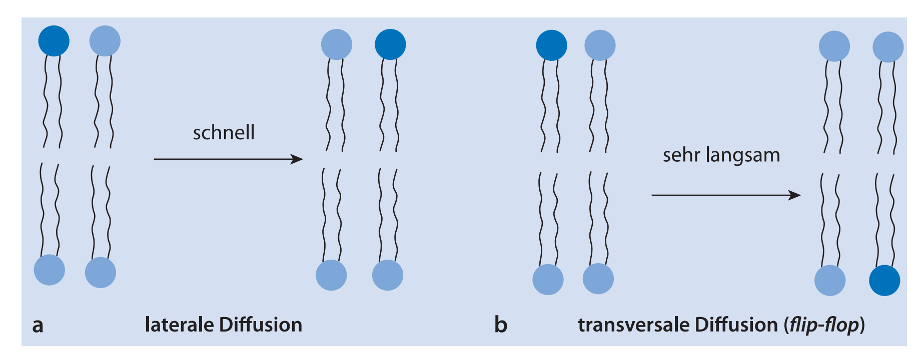



Abb. 24.5a,b. Beweglichkeit von Phospholipiden. **a** Schnelle laterale Diffusion (Austausch eines Phospholipids in der gleichen Ebene), **b** erheblich langsamere transversale Diffusion (Austausch eines Phospholipids zwischen 2 Membranseiten = »*flip-flop*«)

Konzentrierung der an sich im Blut nur in geringen Konzentrationen vorkommenden Gerinnungsfaktoren am Ort der Verletzung erreicht. Durch die Konzentrierung der Gerinnungsfaktoren mit ihren Kofaktoren, Substraten, Kalzium und Phospholipiden wird die katalytisch optimale Spaltung des jeweiligen Substrats ermöglicht und die Enzymaktivität erheblich (um Größenordnungen) verstärkt. Voraussetzung hierfür ist, dass ausreichend anionische Phospholipide (Phosphatidylserin) auf der Zellmembran zur Verfügung stehen.

Dieses Prinzip der Bildung von Multienzymkomplexen, das auf der ausgeprägten Bindungsfähigkeit der Phospholipide beruht, ist für mehrere Schritte des Gerinnungssystems charakteristisch. Beispiele für solche Enzymkomplexe sind (▶ Kap. 15 u. 15):

- FVIIa-TF-Komplex (FVIIa, TF, $Ca^{2+}$, Phospholipid)
- Tenasekomplex (FIXa, FVIIIa, FX, $Ca^{2+}$, Phospholipid)
- Prothrombinasekomplex (FXa, FVa, FII, $Ca^{2+}$, Phospholipid)

Obwohl die Ätiologie und Pathogenese der Antiphospholipidantikörper noch nicht geklärt sind, wird aus den zahlreichen Angriffspunkten für diese Autoantikörper in der Gerinnungskaskade deutlich, dass diese nachhaltig in das Gerinnungssystem eingreifen können (Übersicht: Triplett 1992).

## 24.3 Phospholipidbindende Proteine

Phospholipidbindende Proteine (PL-bindende Proteine) sind Proteine des Gerinnungssystems, die sich an Phospholipide binden. Die für die Diagnostik des Antiphospholipidsyndroms (▶ Kap. 31.1.2 u. 69) wichtigsten PL-bindenden Proteine sind:

- Annexin V
- $\beta_2$-Glykoprotein I
- Protein C
- Protein S
- Prothrombin

PL-bindende Proteine wirken als Kofaktoren bei der Bindung von Antiphospholipidantikörpern (aPL) an Phospholipide, können jedoch auch in Abwesenheit von Phospholipiden antigenes Target der korrespondierenden Autoantikörper sein (Conrad et al. 2007).

### 24.3.1 Annexin V

Annexin V ist ein Protein aus der Annexinfamilie mit einer Molekularmasse von 35–36 kDa und hoher antikoagulatorischer Aktivität. Seine Aktivität beruht auf bei physiologischen $Ca^{2+}$-Konzentrationen hochaffinen Bindung an Phosphatidylserin und andere anionische Phospholipide und somit auf der Inhibition der phospholipidabhängigen Gerinnungskaskade. Annexin V bildet zweidimensionale Kristalle auf der Phospholipidmembran und bildet somit ein Schutzschild zwischen den im Blut zirkulierenden Gerinnungsfaktoren und den Phospholipiden aus, sodass diese für die Gerinnungsfaktoren nicht mehr zugänglich sind (Rand u. Wu 2001). Es wird vermutet, dass die Bindung von Antiphospholipidantikörpern dieses Annexin-V-Schild zerstört, in dessen Folge verstärkt thrombogene Phospholipide in die Zirkulation freigesetzt werden (Rand u. Wu 2004).

Des Weiteren spielt Annexin eine bedeutende Rolle in der Regulation der Apoptose. Ferner scheint ihm eine thrombomodulatorische Rolle in der plazentaren Zirkulation zuzukommen (Rand u. Wu 2004).

Autoantikörper gegen Annexin V sind mit dem Antiphopholipidsyndrom (APS) assoziiert. Des Weiteren wurden sie bei Patienten mit Kollagenosen (v. a. systemischer Lupus erythematodes, SLE) und rheumatoider Arthritis nachgewiesen. Patienten mit Annexin-V-Antikörpern können Symptome eines APS auch bei Abwesenheit von Phospholipidantikörpern aufweisen (Kaburaki et al. 1997).

Annexin-V-Antikörper wurden vor allem bei SLE-Patientinnen mit rezidivierenden Aborten, intrauterinem Fruchttod und Frühgeburten beschrieben. Eine Multivarianzanalyse von Risikofaktoren ergab, dass bei Vorliegen von Annexin-V-Antikörpern ein signifikant erhöhtes Risiko für intrauterinen Fruchttod bei SLE-Patientinnen besteht (Nojima et al. 2001). In einer anderen prospektiven Studie mit 1.038 gesunden Schwangeren konnte jedoch kein Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von Annexin-V-Antikörpern und Schwangerschaftskomplikationen nachgewiesen werden (Bizzaro et al. 2005a).

Eine pathogenetische Bedeutung der Annexin-V-Antikörper bei Schwangerschaftskomplikationen wird diskutiert. Bei trächtigen BALB/c-Mäusen führte die Infusion dieser Antikörper zu Aborten, Plazentathrombosen und Gewebenekrosen. Auch konnte gezeigt werden, dass Annexin-V-Antikörper die Apoptose von Endothelzellen und Synzytiotrophoblasten induzieren und die Gonadotropinsekretion der Trophoblasten inhibieren können (Di Simone et al. 2001).

### 24.3.2 $\beta_2$-Glykoprotein I

$\beta_2$-Glykoprotein I ($\beta_2$GP I), früher als Apolipoprotein H bezeichnet, ist ein phylogenetisch hoch konserviertes Protein und besitzt eine Molekularmasse von 50 kDa. Der Kohlenhydratanteil beträgt ca. 19%. Es besteht aus 326 Aminosäuren, die 5 homologe Domänen bilden. Jede der ersten 4 Domänen (Domäne I–IV) wird von 60 Aminosäuren mit

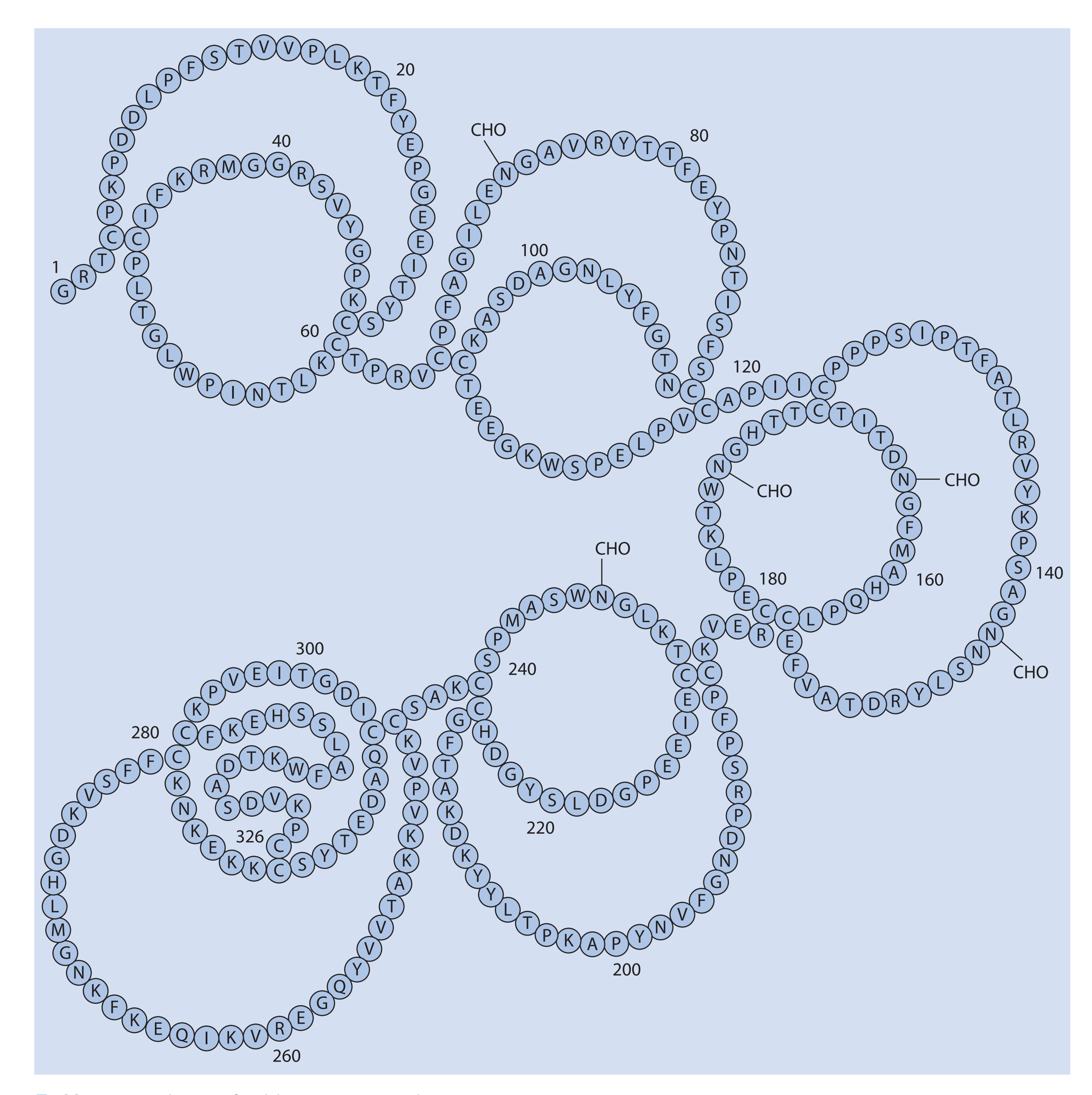



**Abb. 24.6.** Struktur von $\beta_2$-Glykoprotein I (Aus Koike 1994)

2 internen Disulfid-Brücken gebildet (Abb. 24.6, nach Koike 1994). Diese sich wiederholenden Strukturen wurden als »short consensus repeats« oder von der japanischen Gruppe um Koike sehr illustrativ als »Sushi-Domänen« bezeichnet. Die 5. Domäne (Domäne V) im carboxyterminalen Teil des Moleküls besteht aus 82 Aminosäuren und 3 Disulfid-Brücken. Diese Domäne besitzt eine besondere Bedeutung, da die Bindung der Phospholipide (s. u.) an die Aminosäuren 282-287 KNKEKK erfolgt (Hunt u. Krilis 1994). Die Plasmakonzentration von $\beta_2$GP I beträgt ca. 200 mg/l.

$\beta_2$GP I bindet sich an negativ geladene Moleküle wie die Phospholipide Kardiolipin und Phosphatidylserin, Heparin und natürlich auch an die Phospholipide enthaltenden Zellmembranen von aktivierten Endothelzellen und Thrombozyten. $\beta_2$GP I fungiert als Inhibitor des intrinsischen Weges der Blutgerinnung durch Inhibition der Kontaktaktivierung. Des Weiteren beeinflusst $\beta_2$GP I die Plättchenfunktion durch Inhibition der Prothrombinaseaktivität und der ADP-vermittelten Plättchen-Aggregation. $\beta_2$GP I ist an der Beseitigung apoptotischer Zellen durch Bindung an Phosphatidylserin involviert.

$\beta_2$GP I fungiert als Kofaktor bei der Bindung von Antiphospholipidantikörpern an zahlreiche Phospholipide. 1983 führten Harris et al. einen Radioimmunoassay zum

Nachweis von Kardiolipinantikörpern ein (Harris et al. 1983), der schon bald durch einen Enzymimmunoassay (Loizou et al. 1985) abgelöst wurde. Im Verlauf zahlreicher klinischer Studien stellte man fest, dass der Nachweis von Kardiolipinantikörpern und auch anderen Phospholipidantikörpern (Ausnahme: Phosphatidylethanolamin, Kofaktor ist Kininogen) durch einen Kofaktor verstärkt wird, der 1990 durch mehrere Arbeitsgruppen unabhängig voneinander als $\beta_2$GP I identifiziert wurde (McNeil et al. 1990; Matsuura et al. 1990). Durch die Bindung an anionische (negativ geladene) Phospholipide kommt es zu einer Konformationsänderung im $\beta_2$GP-I-Molekül unter Ausprägung eines kryptischen Epitops, das für die Bindung der aPL verantwortlich ist. Hierbei scheint die Dichte des immobilisierten $\beta_2$GP I eine wichtige Rolle zu spielen (Roubey 1994).

Diese aPL sind mit den Klassifikationskriterien des Antiphospholipidsyndroms assoziiert. Hingegen sind die bei zahlreichen Infektionserkrankungen passager auftretenden aPL weitgehend unabhängig von dem Vorhandensein von $\beta_2$-Glykoprotein I. Diese aPL gehen nicht mit den klinischen Bildern eines APS einher. $\beta_2$ Glykoprotein I ist der bekannteste und am besten untersuchte Kofaktor für die Bindung von Phospholipidantikörpern.

Drei Arbeitsgruppen beschrieben 1990 gleichzeitig erstmals Antikörper, die ausschließlich gegen $\beta_2$GP I in Abwesenheit von Phospholipiden gerichtet sind (Galli et al. 1990; Matsuura et al. 1990; McNeil et al. 1990). Matsuura et al. führten durch radioaktive bzw. Plasmabestrahlung negativ geladene Gruppen in die Oberfläche der im Enzymimmunoassay eingesetzten Polystyrenplatten ein, durch die das $\beta_2$GP I eine Konformationsänderung erfährt, welche zur Exprimierung eines Neoepitops führt (Matsuura et al. 1994). Allerdings konnten Koike et al. (1998) durch Phagen-Display-Technik zeigen, dass die gegen den Kardiolipin-$\beta_2$GP-I-Komplex gerichteten Antikörper nicht identisch mit $\beta_2$GP-I-Antikörpern sind.

Anti-$\beta_2$GP-I-Antikörper vom Immunglobulin-G-(IgG-) und IgM-Typ (in Titern <99%ige Perzentile) gelten als diagnostischer Marker und Klassifikationskriterium des APS (► Kap. 31.1.2). $\beta_2$GP-I-Antikörper sind mit dem Auftreten arterieller und venöser Thrombosen sowie habitueller Aborte assoziiert. Den $\beta_2$GP-I-Antikörpern wird eine höhere Spezifität, aber geringere Sensitivität als den Kardiolipinantikörpern zugeschrieben. $\beta_2$GP-I-Antikörper können als IgG-, IgM- und IgA-Antikörper nachgewiesen werden, wobei die IgA-Antikörper die größte Prävalenz zu besitzen scheinen. Über eine mögliche Assoziation der einzelnen Isotypen zu bestimmten Krankheitsmanifestationen liegen keine gesicherten Daten vor. Allerdings sind vor allem $\beta_2$GP-I-Antikörper vom IgG-Isotyp mit venösen und arteriellen Thrombosen assoziiert. $\beta_2$GP-I-Antikörper sind nicht oder nur selten bei Infektionserkrankungen zu finden.

### 24.3.3 Protein C

Protein C ist ein Vitamin-K-abhängiger Inhibitor des Gerinnungssystems mit einer Molekularmasse von 62 kDa. Es wird in der Leber synthetisiert. Im Blut zirkuliert es als inaktives Zymogen, das durch den Thrombin-Thrombomodulin-Komplex unter Abspaltung von 12 Aminosäuren in Position Arg169 aktiviert wird. In aktivierter Form ist Protein C eine Serinprotease. Seine Halbwertszeit beträgt 2–5 h; die Konzentration im Plasma 3–4 mg/l. Es ist in Verbindung mit dem Kofaktor Protein S für die proteolytische Zerstörung der Faktoren Va und VIIIa verantwortlich. Eine ausführliche Darstellung seiner biologischen Funktion erfolgt im ► Kap. 25.

Protein-C-Antikörper werden der »Familie« der Phospholipidantikörper zugerechnet. Protein-C-Antikörper wurden bei Patienten mit APS, Kollagenosen (v. a. SLE) und rheumatoider Arthritis nachgewiesen. Frequenz und Titer dieser Antikörper wurden als signifikant höher bei Patienten mit SLE und venösen Thrombosen im Vergleich zu jenen ohne Thrombosen beschrieben. Eine Multivarianzanalyse von Risikofaktoren ergab jedoch kein signifikant erhöhtes Risiko venöser Thrombosen bei Protein-C-Antikörper-positiven SLE-Patienten (Nojima et al. 2001).

### 24.3.4 Protein S

Protein S ist ein Vitamin-K-abhängiges Glykoprotein, das als Kofaktor von Protein C fungiert und dessen Aktivität deutlich verstärkt. Die Molekularmasse des Proteins beträgt 71 kDa, die Plasmakonzentration beträgt ca. 25 mg/l. Protein S wird in der Leber synthetisiert; seine Halbwertszeit beträgt 42,5 h. Protein S liegt im Plasma in 2 Formen vor: als ausschließlich biologisch aktives freies Protein S (ca. 40%) und im Komplex mit C4b-bindendem Protein (ca. 60%). Eine ausführliche Darstellung seiner biologischen Funktion erfolgt im ► Kap. 25.

Protein-S-Antikörper werden der »Familie« der Phospholipidantikörper zugerechnet. Protein-S-Antikörper wurden bei Patienten mit APS, Kollagenosen (v. a. SLE) und rheumatoider Arthritis nachgewiesen. Frequenz und Titer dieser Antikörper wurden als signifikant höher bei Patienten mit SLE und venösen Thrombosen im Vergleich zu jenen ohne Thrombosen beschrieben. Eine Multivarianzanalyse von Risikofaktoren bestätigte ein signifikant erhöhtes Risiko venöser Thrombosen bei Protein-S-Antikörper positiven SLE-Patienten (Nojima et al. 2001). Weitere klinische Studien sind erforderlich, um die Bedeutung der Protein-S-Antikörper für die Diagnostik des APS zu untermauern.

24

### 24.3.5 Prothrombin

Prothrombin (Faktor II) ist ein Vitamin K-abhängiges Glykoprotein mit einer Molekularmasse von 72 kDa und einer Plasmakonzentration von ca. 0,1 g/l. Es wird in der Leber synthetisiert. Prothrombin wird durch die Gerinnungsfaktoren Xa und Va sowie $Ca^{2+}$ zu Thrombin aktiviert.

Prothrombin wurde bereits 1959 als erster Kofaktor für das Lupusantikoagulans diskutiert (Lölinger 1959). Seine diesbezügliche Funktion als Kofaktor wurde in den folgenden Jahren vielfach bestätigt.

Antiprothrombinantikörper sind mit dem APS assoziiert. Es sei an dieser Stelle ausdrücklich hervorgehoben, dass es 2 unterschiedliche Spezies von Prothrombinantikörpern (aPT) gibt. Zum einen können sie gegen das Prothrombin direkt gerichtet sein, zum anderen erkennen sie ein oder mehrere Epitop(e) des Komplexes aus Phosphatidylserin und Prothrombin (aPs/PT). Dies hat zur Folge, dass in der Literatur z. T. widersprüchliche und uneinheitliche Ergebnisse über die Prävalenz von Prothrombinantikörpern und deren pathogentische Relevanz beim APS vorliegen.

Prothrombinantikörper sind in Abhängigkeit vom Testsystem bei Patienten mit Phospholipidantikörpern in 50–90% nachweisbar. aPs/PT-Antikörper sind stark assoziiert mit den klinischen Symptomen eines APS sowie mit dem Vorkommen des Lupusantikoagulans (Atsumi et al. 2000; Atsumi u. Koike 2002). Bei 33% der SLE-Patienten und in 16% bei Sklerodermiepatienten wurden aPs/PT-Antikörper nachgewiesen – nicht aber bei gesunden Kontrollpersonen (Hasegawa et al. 2004). Prothrombinantikörper sind bei Patientinnen mit einem APS oder SLE mit einer Abortneigung assoziiert (von Landenberg et al. 2003; Bizzaro et al. 2005b).

## Literatur


Atsumi T, Koike T (2002) Clinical Relevance of antiprothrombin antibodies. Autoimmun Rev 1: 49–53

Atsumi T, Ieko M, Bertolaccini ML et al. (2000) Association of autoantibodies against the phosphatidylserine-prothrombin complex with manifestations of the antiphospholipid syndrome and with the presence of lupus anticoagulant. Arthritis Rheum 43(9): 1982–1993

Bizzaro N, Antico A, Musso M et al. (2005a). A prospective study of 1038 pregnancies on the predictive value of anti-Annexin V antibodies for fetal loss. Ann NY Acad Sci 1050: 348–356

Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D et al. (2005b) Prevalence and clinical correlation of anti-phospholipid binding protein antibodies in anticardiolipin-negative patients with systemic lupus erythematosus and women with unexplained recurrent miscarriages. Arch Pathol Lab Med 129(1): 61–68

Conrad K, Schößler W, Hiepe F (2007) Autoantikörper bei systemischen Autoimmunerkrankungen. Pabst Science Publishers, Lengerich

Di Simone N, Castellani R, Caliandro D et al. (2001) Monoclonal anti-Annexin V antibody inhibits trophoblast gonadotropin secretion and induces syncytiotrophoblast apoptosis. Biol Reprod 65: 1766–1770

Galli M, Comfurius P, Maassen C et al. (1990) Anticardiolipin antibodies (ACA) directed not to cardiolipin but to a plasma protein cofactor. Lancet 335: 1544–1547

Harris EN, Gharavi AE, Boey ML et al. (1983) Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. Lancet 2: 1211–1215

Hasegawa M, Sato S, Yanaba K et al. (2004) Autoantibodies against phosphatidylserine-prothrombin complex in patients with systemic sclerosis. Ann Rheum Dis 63: 1514–1517

Hunt JE, Krilis SA (1994) The fifth domain of β2-glycoprotein I contains a phopholipid binding site (Cys281-Cys288) and a region recognized by anticardiolipin antibodies. J Immunol 152: 653–659

IUPAC (1977) The nomenclature of lipids (recommendations 1976), IUPAC-IUB-Commission on Biochemical Nomenclature. Europ J Bioche. 79: 11–21

Kaburaki J, Kuwana M, Yamamoto M et al. (1997) Clinical significance of anti-annexin V antibodies in patients with systemic Lupus erythematosus. Am J Hematol 54: 209–213

Koike T (1994) Anticardiolipin antibodies and β2-glycoprotein I. Clin Immunol Immunpathol 72(2): 187–192

Koike T, Ichikawa K, Kasahara H et al. (1998) Epitopes on beta2-GPI recognized by anticardiolipin antibodies. Lupus 7(Suppl.2): 14–17

Levy RA, Gharavi AE, Sammaritano LR (1990) Fatty acid chain is a critical epitope for antiphospholipid antibody. J Clin Immunol 13(3): 141–145

Lölinger A (1959) Prothrombin as a co-factor of the circulating anticoagulant in systemic lupus erythematodes? Thromb Diath Haemorrh 3: 237–256

Loizou S, McRea JD, Rudge AC et al. (1985) Measurement of anticardiolipin antibodies by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): standardization and quantitation of results. Clin Exp Immunol 62: 738–745

Matsuura ER, Igarashi Y, Fujimoto M et al. (1990) Anticardiolipin cofactor(s) and differential diagnosis of autoimmune disease. Lancet 336: 177–178

Matsuura ER, Igarashi Y, Yasuda T et al. (1994) Anticardiolipin antibodies recognise β2-glycoprotein I structure altered by interacting with an oxygen modified solid phase surface. J Exp Med 179: 457–462

McNeil HP, Simpson RF, Chesterman CN et al. (1990). Anti-phospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid binding inhibitor of coagulation: β2-Glycoprotein I (apolipoprotein H). Proc Natl Acad Sci USA 87: 4120–4124

Nojima J, Kuratsune H, Snehisa E et al. (2001) Association between the prevalence of antibodies to β2-glycoprotein I, prothrombin, protein C, protein S and annexin V in patients with systemic lupus erythematosus and thrombotic and thrombocytopenic complications. Clin Chem 47: 1008–1015

Rand JH, Wu X-X (2001) Antiphospholipid antibody-mediated interference with annexin-V anticoagulant activity. Hämostaseologie 21: 50–53

Rand JH, Wu X-X (2004) Antibody-mediated interference with annexins in the antiphospholipid syndrome. Thromb Res 114: 383–389

Rauch J, Tannenbaum M, Janoff S (1989) Distinguishing plasma lupus anticoagulants from anti-factor antibodies using hexagonal (II) phase phospholipids. Thromb Haemostas 62(3): 892–896

Roubey RAS, Eisenberg RA, Winfield JB (1994) Autoantibodies to β2-glycoprotein I: the role of antibody affinity and antigen density. Lupus 3: 314

Stryer L (1991) Biochemie. Spektrum Akad. Verlag, Heidelberg, S 307

Triplett DA (1992) Antiphospholipid antibodies: proposed mechanisms of action. Am J Reprod Immunol 28: 211–215

von Landenberg P, Matthias T, Zaech J et al. (2003) Antiprothrombin antibodies are associated with pregnancy loss in patients with the antiphospholipid syndrome. Am J Reprod Immunol 49: 51–56

# 25 Thrombomodulin-Protein-C-System und Protein Z

*I. A. Vinnikov, P. P. Nawroth, B. Isermann*

25

## Einleitung

Die prokoagulatorischen Mechanismen des Gerinnungssystems werden durch antikoagulatorische Systeme kontrolliert, wobei dem Thrombomodulin-Protein-C-System (TM-PC-System) eine besondere Bedeutung zukommt. Neben einer thrombinabhängigen negativen Rückkopplung der Gerinnungsaktivierung moduliert das TM-PC-System durch rezeptorabhängige Mechanismen zelluläre Funktionen. Das endotheliale TM-PC-System kontrolliert z. B. durch die Aktivierung der EPCR-PAR- Signaltransduktion (EPCR: endothelialer Protein-C-Rezeptor, PAR: proteaseaktivierbarer Rezeptor) und unabhängig von der Gerinnung per se Krankheitsverläufe im Rahmen einer Sepsis oder einer diabetischen Nephropathie. Diese Funktionen des TM-PC-Systems verdeutlichen, dass das Gerinnungssystem nicht nur als Wächter der Hämostase, sondern auch als Modulator der Homöostase verstanden werden muss.

## 25.1 Struktur und Molekularbiologie

### 25.1.1 Protein C

Das Gen für Protein C (Symbol: PROC) ist auf Chromosom 2 (127.89–127.9 Mbp) lokalisiert. Das Zymogen Protein C (PC) wird vorwiegend in Hepatozyten und primär als einkettiges Protein synthetisiert. Es hat ein molekulares Gewicht von 62 kDa. Durch eine posttranslationale Modifikation wird das Dipeptid Lys156-Arg157 entfernt, sodass ein zweikettiges Polypeptid mit einer leichten (155 Aminosäuren [AS]) und einer schweren (262 AS) Untereinheit entsteht, die durch eine Disulfidbrücke verbunden sind. Im Plasma liegt das zirkulierende Zymogen PC zu 80% in der zweikettigen Form vor (Foster u. Davie 1984). Die Aktivierbarkeit zum aktivierten Protein C (aPC) sowie dessen enzymatische Aktivität ist für die ein- und zweikettigen PC-Formen identisch.

Die leichte Kette des PC umfasst neben einer Gla-Domäne eine kurze hydrophobe Domäne und 2 epidermale Wachstumsfaktor-(EGF-)Domänen. Die schwere Kette umfasst das N-terminale Aktivierungspeptid, das nach Aktivierung durch den Thrombomodulin-Thrombin-Komplex freigesetzt wird, und die Serinproteasendomäne (Abb. 25.1).

PC gehört zu der Gruppe der Vitamin-K-abhängigen Proteine, die durch eine phospholipidbindende Gla-Domäne charakterisiert sind. Die Gla-Domäne enthält die Aminosäure Glutaminsäure (9-mal im PC), die posttranslational durch γ-Carboxylierung modifiziert wird. Durch diese Modifikation wird die Bindung an negativ geladene Phospholipide via positiv geladener Kalziumionen ermöglicht. Dadurch kommt es zu einer lokalen Anreicherung von Gla-Domänen tragenden Proteinen, wodurch die biologischen Effekte räumlich organisiert und verbessert werden. PC wird durch weitere posttranslationale Veränderungen, eine Hydroxylierung der Asparaginsäure in der ersten EGF-Domäne sowie durch N-Glykosylierung (Asn97, Asn248, Asn313, Asn329) modifiziert. Diese Modifikationen ermöglichen eine optimale $Ca^{2+}$-Bindung (McMullen et al. 1983; Fernlund u. Stenflo 1983) bzw. sind für die optimale Sekretion, Prozession, Aktivierung und funktionelle Aktivitäten des Proteins C wichtig (Grinnell et al. 1991).

#### Protein C als Gerinnungsregulator

Protein C zirkuliert im Plasma mit einer Konzentration von 70 nmol als Zymogen. Die Konzentration des aPC, einer Serinprotease (Abb. 25.2), beträgt ~20 pmol (~1 ng/ml) bei normalen, gesunden Individuen und ~4 ng/ml bei septischen Patienten (Liaw et al. 2004). Die Halbwertzeit des aPC beträgt ca. 20 min. Somit kann aPC einen systemischen antikoagulatorischen Effekt vermitteln. Die Eliminierung des aPC verläuft biexponentiell (Ishii et al. 1996).

Der antikoagulatorische Effekt des aPC ist in Gegenwart von 2 Kofaktoren verstärkt:
- Der Kofaktor für die Faktor-Va-(FVa-)Inaktivierung ist Protein S (PS).
- Die Kofaktoren für die FVIIIa-Inaktivierung sind FV und PS.

Die proteolytische Aktivität von aktiviertem PC ist hochspezifisch für membrangebundenes FV/FVa und FVIIIa. Daher ist die Inaktivierung von FVa und FVIIIa durch aPC in Gegenwart negativ geladener Phospholipide (z. B. Phosphatidylserin, Kardiolipin) deutlich begünstigt. Aktiviertes PC spaltet FVa an den Positionen Arg306, Arg506 und Arg679. Die aPC-vermittelte Proteolyse von FVa an Position Arg506 ist gegenüber der Arg306-Position kinetisch begünstigt, weniger von Phospholipiden und Protein S abhängig und wird durch Bindung von FXa an FVa inhibiert. Die limitierte Proteolyse des FVa an Arg506 führt nur zu einem teilweisen Verlust der FVa-abhängigen prokoagulatorischen Kofaktoraktivität (Esmon 2003; Dahlbäck u. Villoutreix 2005).

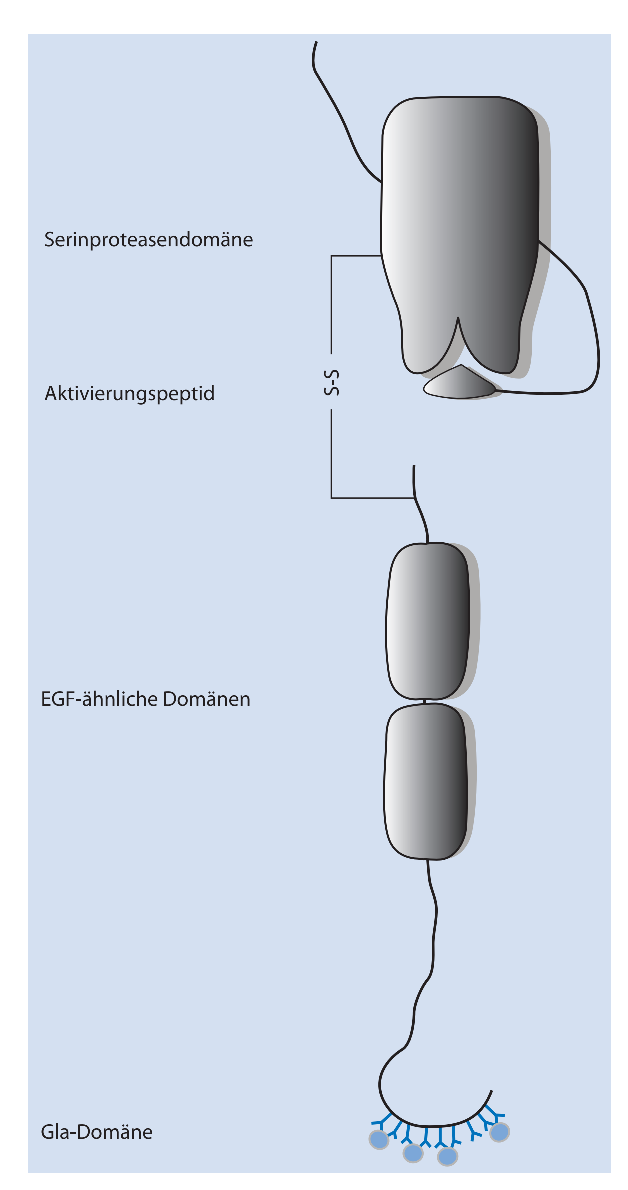



**Abb. 25.1.** Protein C – schematische Darstellung. *Gla* γ-Carboxyglutaminsäure, *EGF* »epidermal growth factor«, *Hellblau* $Ca^{2+}$-Ionen, *Dunkelblau* γ-Carboxyglutaminsäure

Der Kofaktor FVIIIa wird durch aPC an den Positionen Arg336, Arg562 und Arg740 gespalten, wobei neben PS auch FV in der nichtaktivierten Form als Kofaktor erforderlich ist. Während der Inaktivierung von FVIIIa wird FV durch aPC an Position Arg306 und Arg506 gespalten, wobei die limitierte Proteolyse an Position Arg 506 für die Kofaktoraktivität entscheidend ist (Thorelli et al. 1999). FV ist somit sowohl ein Substrat als auch ein Kofaktor für aPC.

Neben den antikoagulatorischen Effekten vermittelt aPC auch profibrinolytische Effekte. Aktiviertes Protein C fördert die Fibrinolyse durch limitierte Proteolyse und Inaktivierung von Plasminogenaktivatorinhibitor 1 (Bajzar et al. 1996). Aktiviertes Protein C kann durch Proteaseinhibitoren wie z. B. PC-Inhibitor (PCI), Plasminogenaktivatorinhibitor 1, α1-Antitrypsin und $α_2$-Makroglobulin inaktiviert werden.

### Zytoprotektive Eigenschaften von aPC

Neben den antikoagulatorischen Effekten vermittelt aPC gerinnungsunabhängige zytoprotektive Effekte, die durch rezeptorabhängige Mechanismen vermittelt werden. Die zytoprotektiven Effekte beruhen z. B. auf den antiinflammatorischen und antiapoptotischen Eigenschaften sowie auf der stabilisierenden Funktion des aPC bei der Aufrechterhaltung der endothelialen Barrierefunktion. Auf molekularer Ebene können die antikoagulatorischen und zytoprotektiven Eigenschaften verschiedenen Domänen zugeordnet werden. So sind positiv geladene, oberflächliche Aminosäuren der katalytischen Domäne von aPC (Lys191, Lys192, Lys193, Loop 37), der kalziumbindenden Domäne (AS 225–235) und der autolytischen Domäne (AS 301–316) essenziell für die antikoagulatorischen Eigenschaften. Argininsubstitutionen an den Positionen 191, 192, 193, 229 und 230 resultieren in einer PC-Mutante mit deutlich verminderten antikoagulatorischen, aber erhaltenen zytoprotektiven Eigenschaften (Mosnier et al. 2004).

Die zytoprotektiven Effekte des aPC werden durch rezeptorabhängige Mechanismen vermittelt, wobei dem proteaseaktivierbaren Rezeptor-1 (PAR-1) eine wesentliche Rolle zukommt (Riewald et al. 2002). PAR-1 ist ein Guanosintriphospat (GTP) bindender Rezeptor mit siebentransmembranösen Domänen, dessen N-terminales Ende durch eine serinproteasenvermittelte limitierte Proteolyse (z. B. durch Thrombin oder aPC) gespalten wird. Der neue N-Terminus bindet und autoaktiviert den Rezeptor.

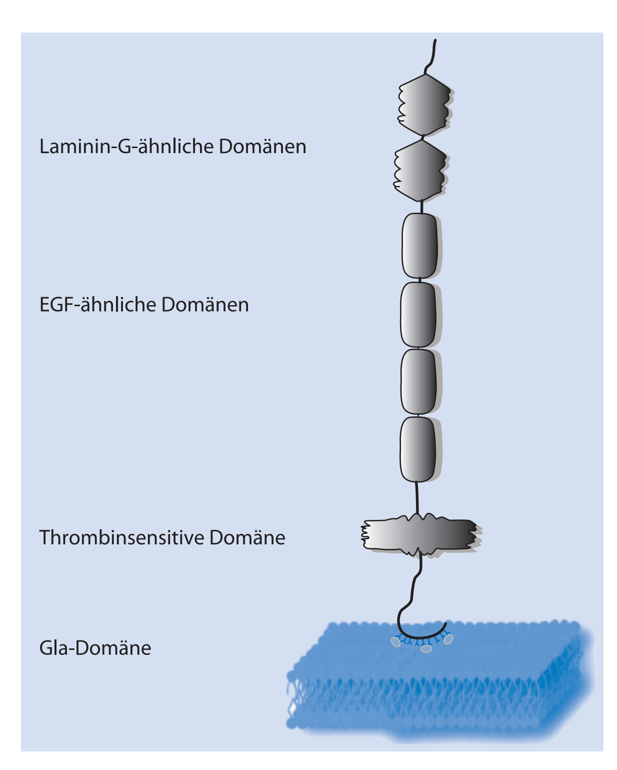
In letzter Zeit ist deutlich geworden, dass die proteaseabhängige Signaltransduktion nicht unidirektionell ist, sondern von temporären, situativen und gewebespezifischen Faktoren abhängt. So hängen die meisten bisher nachgewiesenen zytoprotektiven Effekte des aPC von der Gegenwart des Korezeptors EPCR ab (Riewald et al. 2002; Riewald u. Ruf 2005; Isermann et al. 2007). Kürzlich konnte ein zweiter, EPCR-unabhängiger Mechanismus nachgewiesen werden, durch den aPC eine Zytoprotektion vermittelt. Es konnte gezeigt werden, dass aktiviertes PC den proapoptotischen Regulator TRAIL (»TNF-related apoptosis-inducing ligand«) unabhängig von EPCR durch die Rezeptoren PAR-1 und S1P1 (Edg1, »endothelial differentiation gene 1«, ein G-Protein-gekoppelter Rezeptor) inhibiert (O´Brien et al. 2007). Der Rezeptor S1P1 ist auch für den aPC-vermittelten Schutz der Barrierefunktion in In-vitro-Sepsis-Modellen erforderlich (Feistritzer u. Riewald 2005; Finigan et al. 2005).

Mittels In-vivo-Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die zeitliche Regulation der PAR-Aktivierung ein

weiterer wesentlicher Faktor ist, der den biologischen Effekt determiniert. So vermittelt die frühe PAR-1-Aktivierung schädliche, die spätere PAR-1-Aktivierung hingegen zytoprotektive Effekte im Rahmen der Sepsis (Kaneider et al. 2007). Durch Verwendung niedermolekularer Pepducine (kurze Peptide, die einer der intrazellulären Domänen der siebentransmembranösen Rezeptoren ähnlich sind und diese blocken oder imitieren) konnte zudem gezeigt werden, dass die zytoprotektiven Effekte durch eine PAR-1-abhängige Transaktivierung des Rezeptors PAR-2 vermittelt werden (Kaneider et al. 2007).

## 25.1.2 Protein S

Das Gen für Protein S (Symbol: PROS1) ist auf Chromosom 3 (95.07–95.18 Mbp) lokalisiert. Ebenso wie PC ist PS ein Vitamin K-abhängiges Multidomänenprotein, das in den Hepatozyten synthetisiert wird. Es umfasst eine phospholipidbindende Gla-Domäne, eine thrombinsensitive Domäne (»thrombin sensitive region«, TSR), 4 EGF-ähnliche Domänen und 2 Laminin-G-(LG-)ähnliche Domänen, die auch als SHBG-(»sex hormone binding globulin«)-ähnliche Domänen bezeichnet werden (◘ Abb. 25.2). PS hat eine hohe Affinität für negativ geladene Phospholipide und unterstützt die aPC-Bindung an Membranen. Die Gla-Domäne, die TSR- und die EGF-Domänen 1 und 2 sind für die Interaktion mit aPC erforderlich. Die 2 LG-Domänen, insbesondere LamG2, vermitteln die Kofaktoraktivität bezüglich der FVIIIa-Inaktivierung. PS ist im humanen Plasma zu 60–70% an C4BP (»complement regulator C4b binding protein«) gebunden (Dahlbäck u. Villoutreix 2005). Nur das freie PS ist ein Kofaktor für aPC. PS reicht als alleiniger Kofaktor für die aPC-vermittelte Va-Inhibition aus, wohingegen für die aPC-vermittelte VIIIa-Inhibition zusätzlich FV als synergistischer Kofaktor erforderlich ist.




◘ **Abb. 25.2.** Protein S – schematische Darstellung. *Gla* γ-Carboxyglutaminsäurendomäne, *EGF* »epidermal growth factor«, *Hellblau* $Ca^{2+}$-Ionen, *Dunkelblau* γ-Carboxyglutaminsäure

Die 2 LG-Domänen binden den Komplementfaktor C4BP mit hoher Affinität durch kalziumabhängige und hydrophobe Interaktionen. C4BP ist ein wichtiger Regulator des klassischen Komplementsystems. PS bindet an negativ geladene Phospholipide apoptotischer Zellen und vermittelt die Phagozytose dieser Zellen, wodurch eine »saubere« Entfernung dieser Zellen ohne weiteren Gewebeschaden und ohne Entzündung möglich ist. Diese Funktion wird durch den PS-C4BP-Komplex hingegen inhibiert. Der Komplex aus PS-C4BP ermöglicht aber noch eine Inhibition des Komplementsystems und somit der Nekrose, sodass dennoch ein schütztender Effekt resultieren könnte (Kask et al. 2004). Die In-vivo-Relevanz dieses Phänomens ist noch unbekannt.

## 25.1.3 Thrombomodulin

Das Gen für Thrombomodulin (TM, Symbol: THBD; CD141) ist auf Chromosom 20 (22.97–22.98 Mbp) lokalisiert. TM wird als intronloses Gen kodiert und ist ein einkettiges Glykoprotein (557 AS), das aus 6 funktionellen Domänen besteht. Diese Domänen umfassen eine N-terminale lektinähnliche Domäne, eine hydrophobe Domäne, 6 EGF-ähnliche Domänen, eine Ser/Thr-reiche Domäne, eine einfache transmembranöse Domäne und eine kurze intrazelluläre Domäne (◘ Abb. 25.3). Die N-terminale lektinähnliche Domäne (mit 154 AS die größte globuläre Domäne des TM) hat keinen direkten Einfluss auf die Gerinnung. Dieser Domäne kommt eine Scavenger-Funktion zu, da es das »high mobility group box protein 1« (HMGB1) bindet (Abeyama et al. 2005).

TM ist ein Typ-1-transmembranöses Molekül, das überwiegend auf Endothelzellen, aber auch von Trophoblastenzellen, Mesothel, Keratinozyten und anderen Zellen exprimiert wird. Während der Embryonalzeit wird TM vorübergehend in weiteren Geweben, z. B. in der Lunge im Bereich verzweigender Bronchi exprimiert (Isermann et al. 2001a, 2001b). Im Gefäßsystem ist die relative Expression von TM im kapillären Gefäßgebiet am höchsten, wo das Verhältnis Endothelzelloberfläche zu Blutvolumen besonders hoch ist. TM bindet und inhibiert Thrombin durch die EGF-Domänen 5 und 6. Die PC-Aktivierung wird zudem

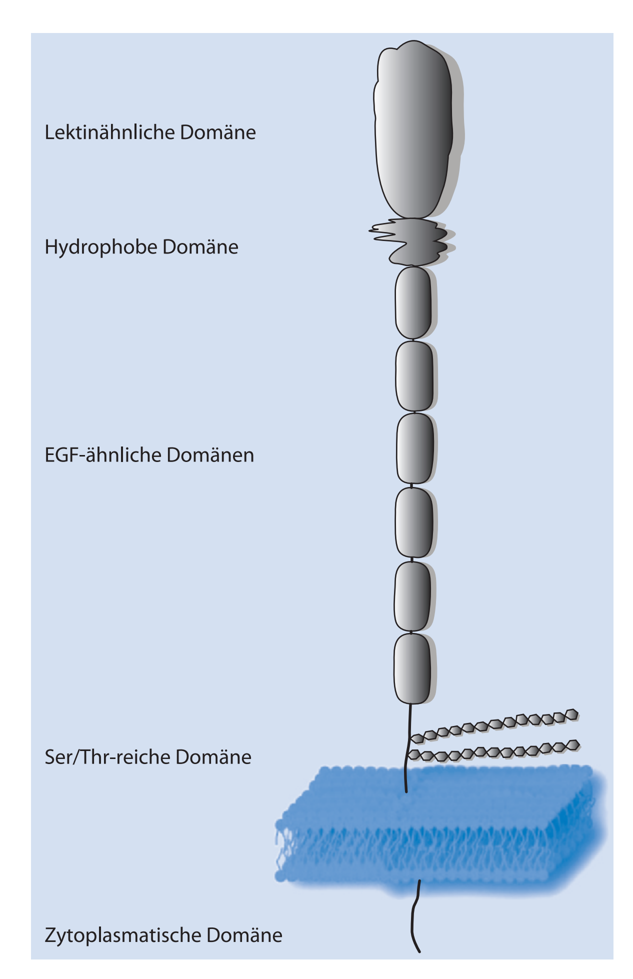



**Abb. 25.3.** Thrombomodulin – schematische Darstellung. *EGF* »epidermal growth factor«, *Ser* Serin, *Thr* Threonin

durch die EGF-Domäne 4, die TAFI-(»thrombin activated fibrinolysis inhibitor«-)Aktivierung durch die EGF-Domäne 3 vermittelt (Weiler u. Isermann 2003).

### Thrombomodulin als Inhibitor und Kofaktor von Thrombin

Thrombin bindet mit der Bindungsstelle I (Exosite I) an TM (Dissoziationskonstante $K_d$: ~0,5 nmol), sodass die wesentlichen prokoagulatorischen Interaktionen zwischen Thrombin und Substraten, wie z. B. Thrombozyten, FV und FVIII, PAR-1 oder Fibrinogen, inhibiert werden. An TM gebundenes Thrombin wird zusätzlich durch Antithrombin (AT) und PCI inhibiert (Thrombomodulin beschleunigt die Inaktivierung um den Faktor 20), wobei die Chondroitinsulfatseitenkette die Effizienz dieser Mechanismen der Thrombininhibition steigert (Esmon 2003). Die Chondroitinsulfatseitenkette von Thrombomodulin erleichtert auch die Bindung von PF4 (Plättchenfaktor 4) an Protein C und verstärkt damit die PC-Aktivierung (Koyama et al. 1991).

Neben diesen direkten antikoagulatorischen Eigenschaften amplifiziert Thrombomodulin die thrombinabhängige PC-Aktivierung um mehr als den Faktor 1.000 (Esmon et al. 1982a, 1982b). Dabei interagiert die EGF-Domäne 4 mit positiv geladenen Regionen des PC-Proteins (den Loops 37, 60, 70 und 148 sowie vor allem der Serinproteasendomäne; Tsiang et al. 1992). Eine weitere Amplifikation der PC-Aktivierung um den Faktor 20 erfolgt in Gegenwart von EPCR. EPCR bindet die Gla-Domäne des PC und optimiert die räumliche Anordnung des Substrates PC und des TM-Thrombin-Komplexes. Der PF4 kann durch eine Konformationsänderung des PC dessen Affinität für den TM-Thrombin-Komplex erhöhen und so die PC-Aktivierung bis zu 25-fach weiter optimieren (Slungaard et al. 2003). Die Interaktion der PC-Gla-Domäne mit negativ geladenen Phospholipiden steigert die Effizienz der TM-abhängigen PC-Aktivierung in vitro. Alternativ kann die PC-Gla-Domäne über Phospholipide an EPCR binden.

Neben PC aktiviert der TM-Thrombin-Komplex auch TAFI. Anders als für die PC-Aktivierung ist die EGF-Domäne 3 des TM-Proteins für die TAFI-Aktivierung erforderlich (Wang et al. 2000). TAFI ist eine Carboxypeptidase (Carboxypeptidase B), die C-terminale Lysinreste von Fibrin entfernt und somit die Bindung von Plasminogen und t-PA an Fibrin inhibiert. Letzteres inhibiert die Fibrinolyse. Andere Substrate von TAFIa sind die Anaphylatoxine C3a und C5a, die durch die limitierte Proteolyse C-terminaler Argininreste inhibiert werden. Da TAFIa auch die proinflammatorischen Regulatoren Bradykinin und Osteopontin inhibieren kann, könnte dem TM-Thrombin-Komplex sowohl aufgrund der Aktivierung des PC als auch wegen der Aktivierung des TAFI eine wesentliche antiinflammatorische Funktion zukommen (Myles et al. 2003).

Neben der TAFI-abhängigen Fibrinolyseinhibition kann TM die thrombinabhängige Spaltung des einkettigen urokinaseähnlichen Plasminogenaktivators (scu-PA, »single-chain urokinase-type plasminogen activator«) verstärken, wodurch die Plasminaktivierung und somit die Fibrinolyse inhibiert werden (Schenk-Braat et al. 2001).

## 25.1.4 Endothelialer Protein-C-Rezeptor

Das Gen für EPCR (Symbol: PROCR; CD141) ist auf Chromosom 20 (33.21–33.23 Mbp) lokalisiert. Wie TM ist EPCR ein Typ-1-transmembranöses Glykoprotein (221 AS, Molekulargewicht: 50 kDa). EPCR besteht aus einer kurzen zytoplasmatischen Domäne, einer einfachen transmembranösen Domäne sowie einer extrazellulären, MHC-(»major histocompatibility complex«-)ähnlichen Domäne. Ebenso wie für TM konnte für die kurze zytoplasmatische EPCR-Domäne bisher keine direkte Modulation der in-

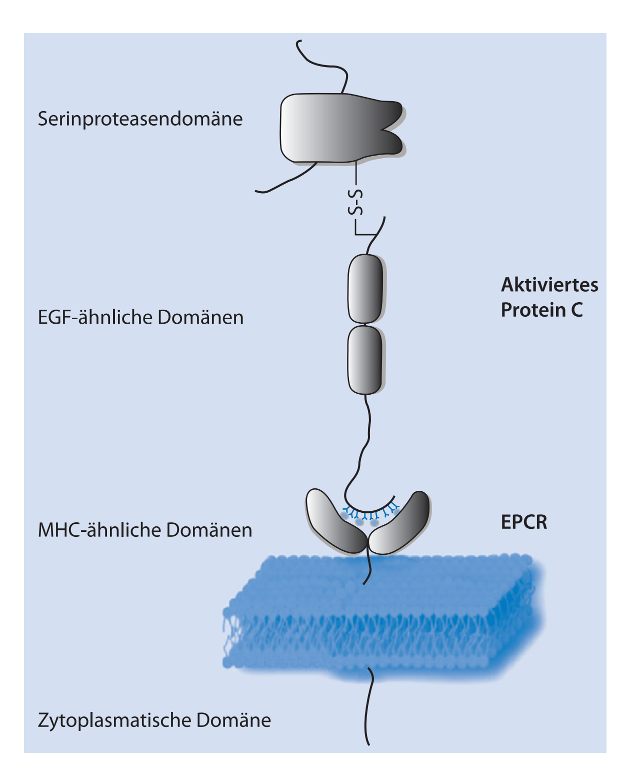



**Abb. 25.4.** Endothelialer Protein-C-Rezeptor mit dem aktivierten Protein C – schematische Darstellung. *EGF* »epidermal growth factor«, *EPCR* endothelialer Protein-C-Rezeptor, *MHC* »major-histocompatibility complex«, *Hellblau* $Ca^{2+}$-Ionen, *Dunkelblau* γ-Carboxyglutaminsäure

trazellulären Signaltransduktion nachgewiesen werden (Abb. 25.4).

Der extrazelluläre Teil von EPCR besteht aus 2 Domänen, die ähnlich zu den α1- und α2-Domänen der antigenpräsentierenden CD1/MHC-Klasse-1-Molekülen sind. Die α3-Domäne der MHC-Moleküle fehlt im EPCR und ist durch die transmembrane Domäne ersetzt. Die α1- und α2-Domänen der CD1/MHC-Proteine bilden eine Vertiefung, die kurze Peptide binden kann. Diese Domänen bestehen aus einem achtkettigen β-Blatt und 2 langen antiparallelen α-Spiralen, wobei die Distanz der α-Spiralen die Breite der Vertiefung bestimmt. Die Vertiefung im EPCR-Molekül ist relativ breit und bildet eine Phospholipidbindungsstelle. Die Bindung von PC/aPC an EPCR wird durch die Gla-Domäne vermittelt, wobei letztere an das EPCR-gebundene Phospholipid bindet. Diese Bindung ist nicht spezifisch für PC/aPC, da auch der Gerinnungsfaktor VIIa mittels der Gla-Domäne an EPCR binden kann (Lopez-Sagaseta et al. 2007). Die physiologische oder pathophysiologische Relevanz der Interaktion von EPCR mit anderen Gerinnungsfaktoren als aPC/PC ist noch unbekannt.

EPCR wird konstitutiv auf der Endotheloberfläche exprimiert, jedoch anders als TM vermehrt auf dem Endothel großer Gefäße. In Gegenwart von EPCR ist die TM-abhängige PC-Aktivierung verstärkt. Durch diese Eigenschaft vermittelt EPCR sowohl antithrombotische als auch antiinflammatorische Effekte. Zumindest letztere werden durch eine Modulation der PAR-Aktivierung vermittelt, wobei EPCR als Korezeptor für die aktivierte PC-abhängige PAR-1-Aktivierung gilt. Es wurde eine lösliche Form von EPCR in Plasma identifiziert (AS 1 bis ca. 194), die mit der gleichen Affinität PC/aPC bindet.

EPCR wird auch von Knochenmarkszellen exprimiert (Balazs et al. 2006). EPCR scheint somit ein charakteristischer Marker von unreifen Vorläuferzellen im Knochenmark zu sein.

### 25.1.5 Protein Z

Das Gen für Protein Z (PZ, Symbol: PROZ) ist auf Chromosom 13 (q34) lokalisiert. PZ ist ein 62 kDa großes Protein aus 396 AS, das aus einer Gla-reichen Domäne, 2 EGF-ähnlichen Domänen und einer trypsinähnlichen Domäne besteht. Protein Z wird in den Hepatozyten synthetisiert und hat eine Halbwertszeit von ca. 2,5 Tagen.

Das Glykoprotein PZ ist ein Vitamin-K-abhängiger Gerinnungsregulator, der somit einer posttranslationalen γ-Carboxylierung in den Hepatozyten unterliegt. PZ hat strukturelle Ähnlichkeiten mit Serinproteasen (z. B. FVII, FIX, FX und PC), hat jedoch infolge des Fehlens eines Serinrestes keine proteolytische Aktivität. Ähnlich wie der Vitamin-K-abhängige Gerinnungsregulator PS hat PZ somit nur eine Kofaktoraktivität. PZ akzeleriert als Kofaktor die Inaktivierung des FXa durch den PZ-assoziierten Proteaseinhibitor (ZPI, »protein Z related protease inhibitor«) um den Faktor 1.000.

In Tierversuchen und in vitro vermittelt PZ einen antikoagulanten Effekt. Die Thromboseneigung in Faktor-V-Leiden-Mäusen wird bei gleichzeitigem Vorliegen eines PZ Mangels aggraviert (Yin et al. 2000).

### 25.1.6 Protein-Z-abhängiger Proteaseninhibitor

Das Gen für ZPI (Symbol: SERPINA10) ist auf Chromosom 14 (q32.1) lokalisiert. ZPI ist ein 444 AS umfassendes Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 72 kDa, das in den Hepatozyten synthetisiert wird. Ebenso wie andere Regulatoren der Hämostase (z. B. Antithrombin, Heparinkofaktor II, Protein-C-Inhibitor) gehört es zur Gruppe der Serpine (*Ser*ine *P*rotease *In*hibitor). Die Plasmakonzentration von ZPI ist höher als die des PZ, sodass PZ nahezu vollständig an ZPI gebunden ist (Tabatabai et al. 2001). Anders als bei anderen Serpinen ist der Komplex aus ZPI und

FXa nicht stabil, sodass der gespaltene ZPI nach Bindung von FXa wieder freigesetzt wird.

PZI inhibiert die Gerinnungsfaktoren FXa und FXIa. Für die Inhibition von FXa, nicht aber für FXIa, sind die Kofaktoren PZ (Beschleunigung um den Faktor 1.000), $Ca^{2+}$-Ionen und negativ geladene Oberflächen wie Phospholipide erforderlich. In Abwesenheit von Heparin scheint ZPI der potenteste FXIa-Inhibitor zu sein (Rezaie et al. 2006). In subphysiologischen Konzentrationen kann ZPI FIXa unabhängig von der Serpinfunktion inhibieren (Heeb et al. 2005).

## 25.2 Funktion und Epigenetik

### 25.2.1 Thrombomodulin-Protein-C-, Protein-Z/ZPI-Systeme und Gerinnungskontrolle

#### Thrombomodulin-Protein-C-System

Das TM-PC-System wurde initial aufgrund seiner antikoagulatorischen Eigenschaften identifiziert. Die Wirkung des aktivierten Protein C wurde von Eberhard Mammen entdeckt. Die Gerinnungskofaktoren VIIIa und Va sowie wichtige Kofaktoren des Tenase- bzw. des Prothrombinasekomplexes werden durch aPC inhibiert. Da die Aktivität des Tenase- und Prothrombinasekomplexes durch diese Kofaktoren um mehrere Größenordnungen (Faktor ~1.000) gesteigert wird, stellt die aPC-vermittelte Inhibition dieser Kofaktoren einen effektiven negativen Rückkopplungsmechanismus der Gerinnungskaskade dar.

Ein heterozygoter PC- oder PS-Mangel ist ein etablierter Risikofaktor für primäre und sekundäre Thrombosen (Griffin et al. 1981). Eine Resistenz gegenüber aPC, z. B. bei Vorliegen einer Mutation der energetisch begünstigten Spaltungsstelle von FVa bei Vorliegen der FV-Leiden-Mutation (Arg506Glu, Prävalenz bei Kaukasiern 5%), resultiert in einem milderen Phänotyp, der mit einem erhöhten Risiko für venöse Thrombosen und Thromboembolien assoziiert ist (Dahlbäck 1999).

#### Protein-Z/ZPI-System

In den meisten, aber nicht allen, klinischen Studien sind niedrige PZ-Plasmaspiegel mit einem erhöhten Risiko für thromboembolische Erkrankungen assoziiert (Zhang et al. 2008). Interessanterweise scheint ein PZ-Mangel auch ein Risikofaktor für arterielle Erkrankungen zu sein. Interpretation und Aussagekraft der klinischen Studien sind aufgrund der großen Streuung der Plasmawerte für PZ und ZPI erschwert bzw. vermindert. Im Mausmodell ist ein isolierter PZ- oder ZPI-Mangel mit dem Leben vereinbar und nicht mit einem spontanen präthrombotischen Phänotyp assoziiert. Er erhöhte aber die Thrombosebildung nach eisenchloridinduzierter Schädigung der Arteria carotis (Yin et al. 2000; Zhang et al. 2008).

Ein isolierter ZPI-Mangel führt zu einer leicht reduzierten Geburtsrate (21% vs. 25% in Kontrollen). Die Kombination eines PZ oder ZPI-Mangels mit der FV-Leiden-Mutation, die selbst nur selten zu einer spontanen Thrombose bei Mäusen führt, resultiert perinatal in einer spontanen disseminierten Thrombosebildung, die tödlich verläuft. Der ZPI-Mangel führt dabei bereits pränatal zu einer vermehrten Letalität, weshalb ZPI im Vergleich zu PZ als der physiologisch wichtigere Gerinnungsinhibitor angesehen werden kann.

### 25.2.2 Thrombomodulin-Protein-C-System und Reproduktion

Mäusen, denen TM oder der Korezeptor EPCR fehlt, sterben in utero infolge eines plazentaren Defektes (Isermann et al. 2001a; Li et al. 2005). Beide Rezeptoren werden ebenso wie weitere Gerinnungsregulatoren und die Rezeptoren PAR-1, -2, -3 und -4 in der murinen und der humanen Plazenta exprimiert (Sood et al. 2005). Das ähnliche Expressionsmuster dieser Gerinnungsregulatoren in der murinen und humanen Plazenta sowie der fehlende Nachweis eines kompletten TM- oder EPCR-Mangels beim Menschen legen nahe, dass ein kompletter TM- oder EPCR-Mangel nicht mit einer regulären embryonalen Entwicklung vereinbar ist. Die Funktion des TM-PC-Systems in der Plazenta ist aber weitestgehend unabhängig von der Gerinnung im engeren Sinne und wird durch 2 Mechanismen vermittelt (Isermann et al. 2003):

Die Expression von TM in diploiden Trophoblastenzellen ermöglicht eine PAR-1-abhängige Proliferation dieser Zellpopulation, zu der auch die trophoblastären Stammzellen gehören. Thrombin hingegen inhibiert die Proliferation von Trophoblastenzellen (O'Brien et al. 2003).

Die Expression von TM in polyploiden trophoblastären Riesenzellen, die in direktem Kontakt mit dem maternalen Blut sind, inhibiert vermutlich via TAFI die Fibrinolyse und somit die Bildung von Fibrinspaltprodukten. Letztere induzieren in Trophoblastenzellen durch einen noch nicht näher charakterisierten Mechanismus eine Apoptose und führen somit zur raschen Resorption der TM-defizienten Embryonen.

Wie aufgrund der Proteinfunktionen zu erwarten, lässt sich die rasche Resorption nur bei TM-defizienten, nicht aber bei EPCR-defizienten Embryonen mit intakter TAFI-Aktivierung nachweisen (Li et al. 2005).

Die membranständigen embryonalen Gerinnungsregulatoren wie TM, EPCR, aber auch TF und PAR, interagieren mit plasmatischen maternalen Gerinnungsregulatoren, wie z. B. FII, FV und PC. So ist z. B. ein gleichzeitiger ma-

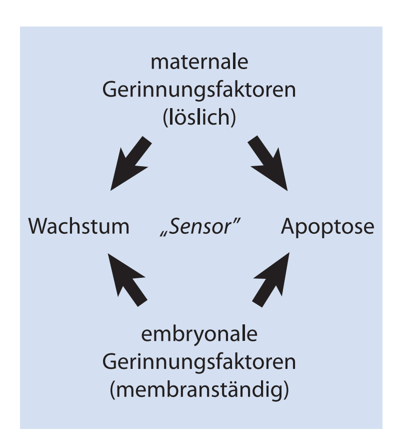



**Abb. 25.5.** Sensorhypothese. Maternale lösliche Gerinnungsfaktoren interagieren mit membranständigen embryonalen Gerinnungsregulatoren in der Plazenta. Eine weitere Entwicklung der Plazenta und des Embryos ist nur möglich, wenn durch die Interaktion der Gerinnungsfaktoren mit den Trophoblastenzellen die Apoptose verhindert wird. Bleiben diese Effekte aus, kommt es zum Abort oder zu Schwangerschaftskomplikationen

ternaler und embryonaler PC-Mangel embryonal ebenso letal wie ein isolierter embryonaler TM- oder EPCR-Mangel. Das gleichzeitige Vorliegen prothrombotischer Risikofaktoren des Embryos (partieller Funktionsverlust des membranständigen TM infolge einer Punktmutation, Glu-404Pro) und der Mutter (PC-Resistenz infolge einer FV-Leiden-Mutation) führt zu einer plazentaren Dysfunktion und beeinträchtigt somit das Überleben der Embryonen (Sood et al. 2007).

Der Nachweis eines maternal-embryonalen Cross Talks über das Gerinnungssystem in der Plazenta führte zur Sensorhypothese (Abb. 25.5). Gemäß dieser Hypothese ist eine normale Entwicklung des Embryos nur möglich, wenn die Interaktion der maternalen und embryonalen Gerinnungsregulatoren in der Plazenta durch rezeptorabhängige Mechanismen die Apoptose inhibiert und durch proliferative Effekte ein weiteres Wachstum der Plazenta und somit des Embryos ermöglicht. Das Gerinnungssystem hat somit in der Plazenta die Funktion eines Sensors, der eine weitere Entwicklung des Embryos ermöglicht, sobald der Kontakt zwischen dem maternalen Blut und dem embryonalen plazentaren Gewebe erfolgreich etabliert ist.

Das Vorliegen prothrombotischer Risikofaktoren wie des FV-Leiden-Polymorphismus ist auch beim Menschen mit einem erhöhten Risiko für Schwangerschaftskomplikationen wie einen frühen oder späten Abort oder eine Präeklampsie assoziiert (Rey et al. 2003; Lin u. August 2005; Howley et al. 2005). Kürzlich konnte eine positive Korrelation zwischen der Anzahl dysfunktioneller EPCR-Allele der Mutter und/oder des Embryos und Schwangerschaftskomplikationen nachgewiesen werden.

### 25.2.3 Zytoprotektive Effekte des Thrombomodulin-Protein-C-Systems

In den letzten Jahren konnte gezeigt werden, dass die seit Langem bekannten schützenden Effekte des aPC im Rahmen der Sepsis wesentlich durch rezeptorabhängige Mechanismen und unabhängig vom antikoagulatorischen Effekt vermittelt werden. Auf diese additiven zytoprotektiven Effekte des aPC kann das verbesserte Überleben von septischen Patienten, die mit aPC behandelt wurden, zurückgeführt werden (Bernard et al. 2001). Hingegen ließ sich für die Gerinnungsinhibitoren TFPI (Tissue Factor Pathway Inhibitor) und Antithrombin in großen klinischen Studien kein verbessertes Überleben nachweisen (Warren et al. 2001; Abraham et al. 2003). Der fehlende Nutzen in den Studien, die TFPI bzw. Antithrombin evaluierten, könnte jedoch auch auf eine unzureichende Planung bzw. Umsetzung der Studien zurückzuführen sein, sodass der Nutzen dieser Therapiestrategien noch nicht abschließend beurteilt werden kann. Für aPC hingegen konnte der Nutzen nachgewiesen und durch weitere experimentelle Daten belegt werden.

Durch Verwendung von PC-Mutanten, die normale zytoprotektive, aber verminderte antikoagulatorische Eigenschaften haben (RR229/230AA, KKK191-193AAA), konnte das Überleben im Mausmodell der Sepsis ebenso verlängert werden wie durch Wildtyp-aPC (Kerschen et al. 2007). Somit konnte der Nachweis erbracht werden, dass im Rahmen der Sepsis die antikoagulatorischen und zytoprotektiven Effekte durch verschiedene Strukturen des aPC vermittelt werden. Anders als initial angenommen, können die Effekte jedoch nicht auf eine unidirektionale PAR-1-Aktivierung zurückgeführt werden. Die Zytoprotektion im Rahmen der Sepsis beruht vielmehr auf einer zeitlich und örtlich regulierten Aktivierung verschiedener PAR und einem Cross Talk dieser Rezeptoren (Kaneider et al. 2007; Niessen et al. 2008).

Diese komplexen Interaktionen der Rezeptoren in vivo erklären möglicherweise, warum nur wenige Gene (z. B. p53, Thrombospondin 1) in zytokinaktivierten Endothelzellen durch Thrombin und aPC in vitro differenziell reguliert werden (Riewald u. Ruf 2005). Obgleich die Bedeutung von aPC für die differenzielle PAR-Aktivierung im Rahmen der Sepsis in vivo nachzuweisen bleibt, haben diese neuen Daten gezeigt, dass eine Optimierung der Sepsistherapie durch aPC-Varianten mit verminderten antikoagulatorischen Eigenschaften oder durch zeitlich regulierte PAR-Aktivierung möglich ist.

Der genaue Mechanismus, durch den aPC die Mortalität septischer Patienten reduziert, ist noch nicht bekannt. Durch eine Verbesserung der endothelialen Barrierefunktion könnte aPC das Überleben verbessern. Neben den Rezep-

toren PAR-1 und EPCR ist der Rezeptor S1P1 für den aPC-vermittelten Schutz der endothelialen Barrierefunktion erforderlich. Unklar ist dabei noch, ob die Interaktion zwischen PAR-1/EPCR und S1P1 auf einer direkten Interaktion der Rezeptoren oder aber auf einer PAR-1 EPCR-abhängigen Inhibition der S1P-Synthese (Sphingosin-1-Phosphat) durch Inhibition der SPHK1-(Sphingosinkinase-1-)Aktivität beruht (Feistritzer et al. 2004; Finigan et al. 2005).

Zudem könnte das verbesserte Überleben von septischen Patienten nach aPC-Behandlung auf nephroprotektive Effekte von aPC zurückgeführt werden. Im Tiermodell zur Untersuchung des akuten Ischämiereperfusionsschadens konnte gezeigt werden, dass aPC (100 µg/kgKG) die In-vivo-Adhäsion von Leukozyten in den peritubulären Kapillaren, die Expression von induzierbarer NO-Synthase (iNOS) und Angiotensin II sowie die Kaspase-3-Aktivität reduziert bzw. normalisiert (Gupta et al. 2007a, 2007b). Tierexperimentell kann auch durch eine intrarenale Injektion des löslichen TM, nicht aber durch Injektion des direkten Thrombininhibitors Argatroban, die Nierenschädigung im Rahmen einer Ischämiereperfusionsschädigung vermindert werden (Ozaki et al. 2008). Diese nephroprotektiven Eigenschaften könnten nicht nur die Ergebnisse der Sepsistherapie, sondern auch der Transplantationsmedizin in Zukunft verbessern.

Experimentelle Daten legen nahe, dass aPC nicht nur für die Therapie der Sepsis, sondern auch der zerebralen Ischämie geeignet sein könnte (Shibata et al. 2001; Liu et al. 2004; Guo et al. 2004). Das aPC inhibiert die neuronale Apoptose durch eine veränderte Genexpression pro- und antiapoptotischer Regulatoren (Bax, Bcl-2) und schützt somit vor einer hypoxieinduzierten Gewebsschädigung. Zudem kann aPC den therapeutischen Nutzen einer Fibrinolyse verbessern, indem es die t-PA-vermittelte Aktivierung des extrinsischen Apoptosesystems inhibiert und die prohämorrhagischen Effekte des t-PA, die auf einer von NF-κB (»nuclear factor κB«) abhängigen Aktivierung der Matrixmetalloprotease 9 (MMP9) beruhen, vermindert.

Interessanterweise vermittelt aPC in vitro einen direkten antiapoptotischen Effekt durch PAR-1 und PAR-3 in Neuronen (Guo et al. 2004). Es ist davon auszugehen, dass ähnlich wie bei der Therapie der Sepsis die therapeutische Sicherheit durch den Einsatz von PC-Mutanten mit reduzierten antikoagulatorischen Eigenschaften verbessert werden kann und so ein Einsatz im Menschen möglich wird.

Anders als bei der Sepsis, dem Schlaganfall oder dem akuten Nierenversagen blieb die Bedeutung des TM-PC-Systems für chronische Gefäßerkrankungen lange unbekannt, obgleich eine Erhöhung der löslichen Form des TM (sTM) im Plasma seit Langem als Marker einer endothelialen Dysfunktion gilt. Die Konzentration des sTM beträgt bei Gesunden <50 ng/ml, kann aber z. B. bei diabetischen Patienten erhöht sein (>100 ng/ml). Die Erhöhung der sTM

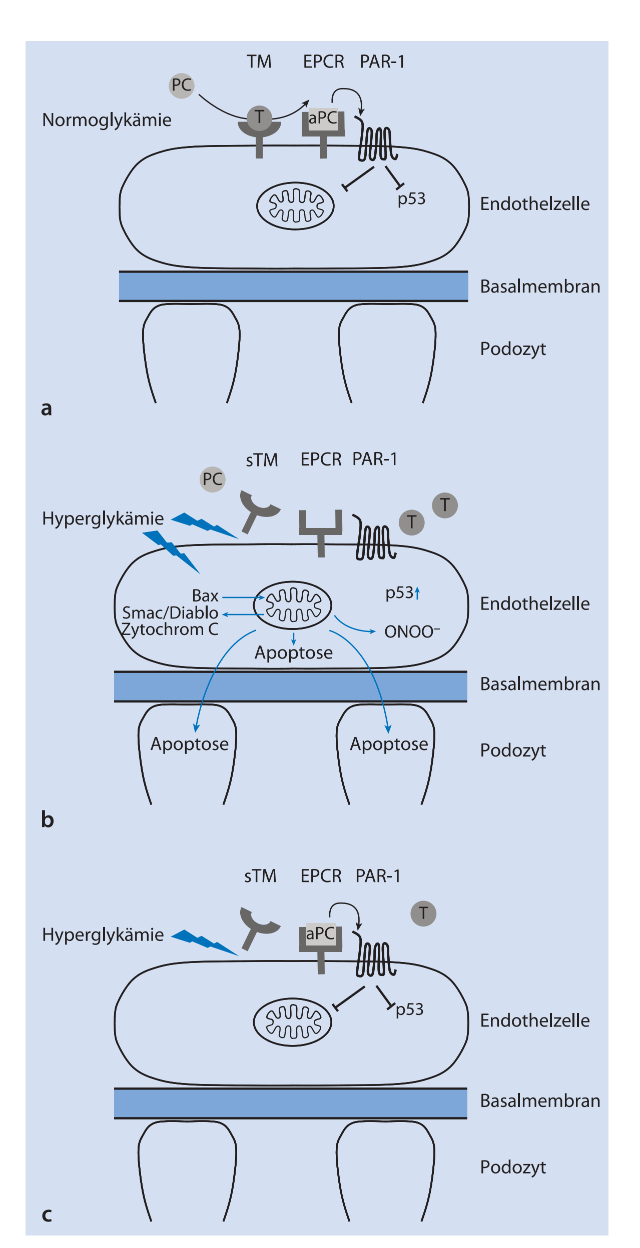



**Abb. 25.6a–c.** Aktiviertes PC-System schützt Endothelzellen und Podozyten vor der glukoseinduzierten Apoptose (Schema). **a** In gesunden, normoglykämischen Gefäßen erfolgt eine TM-abhängige PC-Aktivierung. Aktiviertes PC kann in Gegenwart von EPCR via PAR-1 die Zellfunktion regulieren, **b** Hyperglykämie führt zu einer endothelialen Dysfunktion mit einem Verlust der TM-abhängigen PC-Aktivierung. Die fehlenden zytoprotektiven Effekte des aktivierten PC führen zu einer mitochondrialen Apoptose der Endothelzellen und – durch einen noch nicht im Detail geklärten Mechanismus – der Podozyten, **c** Die Substitution von aktiviertem PC ermöglicht eine rezeptorabhängige Inhibition der mitochondrialen Apoptose und schützt so die Endothelzellen und die Podozyten vor der glukoseinduzierten Apoptose. *aPC* aktiviertes Protein C, *EPCR* endothelialer PC-Rezeptor, *PAR-1* proteaseaktivierbarer Rezeptor-1, *PC* Protein C, *Smac/Diablo* »second mitochondrial apoptosis activating protein«, *sTM* lösliches Thrombomodulin, *T* Thrombin, *TM* Thrombomodulin

wird auf einen Verlust des membranständigen TM zurückgeführt, der auf einer proteolytischen Spaltung z. B. durch Proteasen aus Neutrophilen (Proteinase 3, Elastase, Kathepsin G; Boehme et al. 2002) und möglicherweise aus Rhomboiden (intramembran lokalisierte Proteasen; Lohi et al. 2004) beruht.

Des Weiteren wird die Funktion des endothelialen TM durch eine verminderte Expression und durch posttranslationelle Modifikationen beeinträchtigt. Durch Oxidierung der Aminosäure Methionin 388, die in der kurzen Interdomäne zwischen den EGF-Domänen 4 und 5 liegt, wird die Aktivität von TM um 75–90% reduziert (Glaser et al. 1992). Dieser Mechanismus könnte in vivo relevant sein, da eine diätetisch induzierte Hyperhomozysteinämie, ein etablierter Risikofaktor für oxidative Proteinschädigung, die PC-Aktivierung ebenso reduziert wie eine persistierende Hyperglykämie (Lentz et al. 1999; Isermann et al. 2007).

Eine Aktivierung des Gerinnungssystems im Rahmen des Diabetes mellitus ist schon seit Langem bekannt. Unklar war aber lange, ob eine Dysfunktion des PC-Systems nur mit vaskulären Erkrankungen assoziert ist oder aber aktiv die Pathogenese der Gefäßerkrankungen moduliert. Durch In-vivo-Manipulation der Aktivität des TM-PC-Systems konnte kürzlich gezeigt werden, dass der endothelialen Dysfunktion mit einem Verlust der endothelabhängigen PC-Aktivierung eine kausale Bedeutung für die Pathogenese der diabetischen Nephropathie zukommt. Die Niere wird durch aPC gegen die hyperglykämieinduzierte mitochondriale Apoptose von Endothelzellen und Podozyten durch einen rezeptorabhängigen Mechanismus (vermittelt durch PAR-1 und EPCR) geschützt – unabhängig von der Entzündungsreaktion und der Gerinnungsaktivierung im engeren Sinne (d. h. der Bildung von Thrombozyten-Fibrin-Aggregaten). Die Inhibition der mitochondrialen Apoptose ist mit einer verminderten Peroxinitratbildung assoziiert, wodurch erstmals antioxidante Eigenschaften des endothelialen TM-PC-Systems in vivo nachgewiesen wurden (Isermann et al. 2007).

Diese Daten haben mit dem TM-PC-System erstmals ein endotheliales System identifiziert, dessen Funktionsverlust kausal zur Entstehung der diabetischen Nephropathie beiträgt. Somit konnte die pathogenetische Relevanz der endothelialen Dysfunktion für die diabetische Nephropathie nachwiesen werden. Der Nachweis, dass eine Apoptoseinhibition ausreicht, um die diabetische Nephropathie zu verhindern, zeigt zudem neue therapeutische Anasatzpunkte für diese mikrovaskuläre diabetische Komplikation auf.

Nicht nur durch die PC-Aktivierung, sondern auch durch Effekte der lektinähnlichen Domäne kann TM zytoprotektive Effekte vermitteln. Die lektinähnliche Domäne des TM verbessert das Überleben im Sepsismodell, verringert den Gewebeschaden im kardialen Ischämiereperfusionsmodell und vermindert die Gelenkschädigung im Arthritismodell in vivo. Die lektinähnliche Domäne vermindert in Endothelzellen die Aktivierung von MAPK (mitogenaktivierte Proteinkinase) und NF-κB sowie die Expression von Adhäsionsmolekülen (ICAM-1, VCAM-1) und reduziert die Apoptose (Conway et al. 2002). Im Modell der akuten Arthritis vermindert die lektinähnliche Domäne zudem die Aktivierung des Komplementsystems durch das klassische und das lektinabhängige System (Van de Wouwer et al. 2006).

Ein möglicher Mechanismus, durch den die lektinähnliche Domäne zellschützende Effekte vermitteln könnte, ist die Bindung von HMGB1 (Abeyama et al. 2005). HMGB1 bindet den zellulären Rezeptor RAGE (»receptor for advanced glycation end products«) und führt zu einer Aktivierung des MAPK-Systems und des Transkriptionsfaktors NF-κB. Andere potenzielle Rezeptoren von HMGB1 sind die Toll-like Rezeptoren 2 und 4 (TLR-2 und TLR-4; Bianchi u. Manfredi 2007). RAGE, TLR-2 und TLR-4 sind somit neben den PAR potenzielle Zielstrukturen des endothelialen TM-PC-Systems, durch die das TM-PC-System zytoprotektive Effekte regulieren kann. Die Relevanz dieser Effekte im humanen System ist noch unklar.

Neben diesen zytoprotektiven Effekten vermittelt die lektinähnliche Domäne auch protektive Effekte im Rahmen maligner Tumorerkrankungen. Eine vermehrte Expression von TM in Lungen-, Ösophagus- oder oralen Plattenepithelkarzinomen ist mit einem besseren Differenzierungsgrad und verbesserten Überlebensraten assoziiert (Tezuka et al. 1995; Hamatake et al. 1996; Tabata et al. 1997; Ogawa et al. 2000). Hingegen ist eine niedrige Expression von TM in Leber- oder Mammakarzinomen mit einer vermehrten Metastasierung und einer höheren Rezidivrate assoziiert. Die Proliferation und Invasion maligner Zellen ist in vitro negativ mit der TM-Expression assoziiert, wobei diese Effekte durch die lektinähnliche Domäne vermittelt werden (Hosaka et al. 2000; Zhang et al. 1998). Der antiproliferative Effekt von TM in malignen Zellen wird zudem durch die transmembranöse und zytoplasmatische Domäne, aber unabhängig von der PC-Aktivierung oder der PAR-1-Aktivierung vermittelt (Zhang et al. 1998). Inwieweit diese Effekte auf eine Regulation der Zelladhäsion durch die lektinähnliche Domäne von TM zurückzuführen sind, ist unklar (Huang et al. 2003).

### 25.2.4 Neue Funktionen des Thrombomodulin-Protein-C-Systems

Ein Verlust des endothelialen TM und EPCR im Sinne einer endothelialen Dysfunktion konnte mittels immunhistochemischen Färbungen in arteriosklerotischen Läsionen nachgewiesen werden (Laszik et al. 2001). Die Assoziation genetischer Polymorphismen im TM-Gen mit arterioskler o-

tischen Erkrankungen legt eine Bedeutung des endothelialen TM-PC-Systems für die Entstehung arterieller Gefäßkrankheiten nahe (Weiler u. Isermann et al. 2003). Letzteres wird auch durch das Ergebnis der prospektiven ARIC-Studie belegt, in der sich eine negative Korrelation zwischen den Plasmaspiegeln des löslichen TM und koronaren Herzerkrankungen bzw. peripherer arterieller Verschlusskrankheit zeigte (Salomaa u. Wu 1999; Salomaa et al. 2001). Der schützende Effekt der erhöhten Plasmaspiegel des löslichen TM wurde auf eine erhöhte Expression von TM bei diesen Individuen zurückgeführt und widerspricht somit der Funktion des löslichen TM als Marker der endothelialen Dysfunktion. Da bisher nicht gezeigt wurde, dass bei gesunden Individuen die Plasmaspiegel des löslichen TM mit der endothelialen Expression von TM korrelieren, bleibt der Mechanismus, durch den das TM-PC-System die Entstehung der Arteriosklerose reguliert, unklar. Da einige lektinähnliche Rezeptoren »oxidized low density lipoprotein« (oxLDL) binden und inhibieren (Mehta et al. 2006), könnten die Zusammenhänge zwischen dem TM-PC-System und Arteriosklerose multifaktoriell sein. Eine detaillierte In-vivo-Struktur-Funktions-Analyse ist erforderlich, um die Zusammenhänge aufzuklären.

Die Bedeutung des endothelialen TM-PC-Systems für das akute Gefäßremodelling nach einer Gefäßverletzung ist hingegen besser belegt. Nach Verletzung des Endothels im Rahmen interventioneller Eingriffe wird die Expression der Rezeptoren PAR-1 und PAR-2 in den Gefäßabschnitten im Tiermodell und im Menschen induziert (Nelken et al. 1992; Damiano et al. 1999). Ein PAR-1-Mangel reduziert im Tiermodell die Gefäßstenose ebenso wie eine retroviral lokal induzierte TM-Expression (Cheung et al. 1999; Waugh et al. 2000). Letzteres könnte auf eine TM-abhängige Thrombininhibition zurückzuführen sein (Alt et al. 2000). Es bleibt deshalb abzuwarten, ob der therapeutische Nutzen einer direkten Modulation der PAR-abhängigen Signaltransduktion größer ist als der einer alleinigen Thrombininhibition.

Lösliches TM im Plasma besteht nicht nur aus der intakten extrazellulären Domäne, sondern auch aus Fragmenten der extrazellulären Domäne. Die biologischen Eigenschaften dieser Fragmente könnten sich von denen des intakten löslichen TM und insbesondere des membranassoziierten TM unterscheiden. Die Expression von intaktem TM reduziert die Proliferation von Endothelzellen durch eine Modulation der Thrombin/PAR-1-abhängigen intrazellulären Aktivierung des MAPK/ERK-Systems (ERK = extrazellulär signalaktivierte Kinase; Olivot et al. 2001). Hingegen vermitteln die 6 EGF-ähnlichen Domänen des TM durch einen nicht näher bekannten Mechanismus einen proliferativen Effekt in glatten Muskelzellen und Fibroblasten (Hamada et al. 1995; Tohda et al. 1998). Auf diesem proliferativen Effekt könnte auch der proangiogenetische Effekt der EGF-Domänen des TM beruhen (Shi et al. 2005), der ebenso durch das MAPK-System (ERK1/2, p38) sowie durch das PI-3-Kinase/Akt/eNOS-System vermittelt wird (PI-3-Kinase = Phosphoinositid-3-Kinase; Akt = Proteinkinase B, PKB; eNOS = endotheliale NO-Synthase).

Eine Funktion von TM in der Haut, wo es von epidermalen Keratinozyten exprimiert wird, konnte nicht nachgewiesen werden. Während der Wundheilung wird die Expression von TM differenziell reguliert, wobei TM nicht in den migrierenden Zellen der Neoepidermis, jedoch in den Keratinozyten des Stratum reticulare der Neoepidermis exprimiert wird. Ein partieller Verlust der TM-Funktion mit deutlich reduzierter PC-Aktivierung beeinträchtigt jedoch nicht die Wundheilung (Peterson et al. 1999). Insofern ist es überraschend, dass aPC die Wundheilung in vivo begünstigt (Xue et al. 2006). Die verbesserte Wundheilung nach lokaler Applikation von aPC ist mit einer vermehrten Expression von VEGF (»vascular endothelial growth factor«), MCP-1 (»monocyte chemotactic protein-1«), Il-8 (Interleukin-8) und MMP2 (Matrixmetalloproteinase 2) in kutanen Fibroblasten in vitro assoziiert. Der fehlende Effekt eines Verlustes der TM-abhängigen PC-Aktivierung sowie die lokale Expression von PC in Keratinozyten könnten auf eine neue Funktion des PC in der Haut hindeuten (Xue et al. 2007).

### 25.2.5 Zusammenfassung

Die antikoagulatorischen Eigenschaften des TM-PC-Systems sind seit Langem bekannt. Ein Funktionsverlust des TM-PC-Systems, häufig Folge einer Resistenz des Substrates FV, ist ein etablierter Risikofaktor für venöse Thrombosen und Thromboembolien. In den letzten Jahren konnten zytoprotektive Effekte des TM-PC-Systems nachgewiesen werden, die unabhängig von der Gerinnung per se, d. h. der Thrombozyten-Fibrin-Interaktion, durch rezeptorabhängige Mechanismen reguliert werden. Auf diesen zytoprotektiven Effekten beruht der klinische Nutzen bei der Therapie septischer Patienten. Neue Funktionen des TM-PC-Systems, die auf einer rezeptorvermittelten Modulation der Zellfunktion, z. B. der Apoptose, beruhen, konnten im Rahmen der Reproduktion (Plazentafunktion) und akuter und chronischer Nephropathien etabliert werden.

### Literatur

Abeyama K, Stern DM, Ito Y et al. (2005) The N-terminal domain of thrombomodulin sequesters high-mobility group-B1 protein, a novel antiinflammatory mechanism. J Clin Invest 115: 1267–1274
Abraham E, Reinhart K, Opal S et al. (2003) Efficacy and safety of tifacogin (recombinant tissue factor pathway inhibitor) in severe sepsis: a randomized controlled trial. Jama 290: 238–247
Alt E, Haehnel I, Beilharz C et al. (2000) Inhibition of neointima formation after experimental coronary artery stenting: a new biodegradable

stent coating releasing hirudin and the prostacyclin analogue iloprost. Circulation 101: 1453–1458
Bajzar L, Kalafatis M, Simioni P et al. (1996) An antifibrinolytic mechanism describing the prothrombotic effect associated with factor VLeiden. J Biol Chem 271: 22949–22952
Balazs AB, Fabian AJ, Esmon CT et al. (2006) Endothelial protein C receptor (CD201) explicitly identifies hematopoietic stem cells in murine bone marrow. Blood 107: 2317–2321
Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF et al. (2001) Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. N Engl J Med 344: 699–709
Bianchi ME, Manfredi AA (2007) High-mobility group box 1 (HMGB1) protein at the crossroads between innate and adaptive immunity. Immunol Rev 220: 35–46
Boehme MW, Galle P, Stremmel W (2002) Kinetics of thrombomodulin release and endothelial cell injury by neutrophil derived proteases and oxygen radicals. Immunology 107: 340–349
Cheung WM, D´Andrea MR, Andrade-Gordon P et al. (1999) Altered vascular injury responses in mice deficient in protease activated receptor-1. Arterioscler Thromb Vasc Biol 19: 3014–3024
Conway EM, Van de Wouwer M, Pollefeyt S et al. (2002) The lectin-like domain of thrombomodulin confers protection from neutrophil-mediated tissue damage by suppressing adhesion molecule expression via nuclear factor kappaB and mitogen activated protein kinase pathways. J Exp Med 196: 565–577
Dahlback B (1999) Activated protein C resistance and thrombosis: molecular mechanisms of hypercoagulable state due to FVR506Q mutation. Semin Thromb Hemost 25: 273–289
Dahlback B, Villoutreix BO (2005) The anticoagulant protein C pathway. FEBS Lett 579: 3310–3316
Damiano BP, D´Andrea MR, de Garavilla L et al. (1999) Increased expression of protease activated receptor-2 (PAR-2) in balloon-injured rat carotid artery. Thromb Haemost 81: 808–814
Esmon CT (1984) Protein C. Prog Hemost Thromb 7: 25–54
Esmon CT (2003) The protein C pathway. Chest 124: 26S-32S
Esmon CT, Esmon NL, Harris KW (1982a) Complex formation between thrombin and thrombomodulin inhibits both thrombin-catalyzed fibrin formation and factor V activation. J Biol Chem 257: 7944–7947
Esmon NL, Owen WG, Esmon CT (1982b) Isolation of a membrane-bound cofactor for thrombin-catalyzed activation of protein C. J Biol Chem 257: 859–864
Feistritzer C, Riewald M (2005) Endothelial barrier protection by activated protein C through PAR1-dependent sphingosine 1-phosphate receptor-1 crossactivation. Blood 105: 3178–3184
Feistritzer C, Mosheimer BA, Kaneider NC et al. (2004) Thrombin affects eosinophil migration via protease activated receptor-1. Int Arch Allergy Immunol 135: 12–16
Fernlund P, Stenflo J (1983) Beta-hydroxyaspartic acid in vitamin K-dependent proteins. J Biol Chem 258: 12509–12512
Finigan JH, Dudek SM, Singleton PA et al. (2005) Activated protein C mediates novel lung endothelial barrier enhancement: role of sphingosine 1-phosphate receptor transactivation. J Biol Chem 280: 17286–17293
Foster D, Davie EW (1984) Characterization of a cDNA coding for human protein C. Proc Natl Acad Sci USA 1984 81: 4766–4770
Glaser CB, Morser J, Clarke JH et al. (1992) Oxidation of a specific methionine in thrombomodulin by activated neutrophil products blocks cofactor activity. A potential rapid mechanism for modulation of coagulation. J Clin Invest 90: 2565–2573
Griffin JH, Evatt B, Zimmerman TS et al. (1981) Deficiency of protein C in congenital thrombotic disease. J Clin Invest 68: 1370–1373
Grinnell BW, Walls JD, Gerlitz B (1991) Glycosylation of human protein C affects its secretion, processing, functional activities, and activation by thrombin. J Biol Chem 266: 9778–9785
Guo H, Liu D, Gelbard H, Cheng T et al. (2004) Activated protein C prevents neuronal apoptosis via protease activated receptors 1 and 3. Neuron 41: 563–572
Gupta A, Berg DT, Gerlitz B et al. (2007a) Activated protein C suppresses adrenomedullin and ameliorates lipopolysaccharide-induced hypotension. Shock 28: 468–476
Gupta A, Rhodes GJ, Berg DT et al. (2007b) Activated protein C ameliorates LPS-induced acute kidney injury and downregulates renal INOS and angiotensin 2. Am J Physiol Renal Physiol 293: F245–254
Hamada H, Ishii H, Sakyo K et al. (1995) The epidermal growth factor-like domain of recombinant human thrombomodulin exhibits mitogenic activity for Swiss 3T3 cells. Blood 86: 225–233
Hamatake M, Ishida T, Mitsudomi T et al. (1996) Prognostic value and clinicopathological correlation of thrombomodulin in squamous cell carcinoma of the human lung. Clin Cancer Res 2: 763–766
Heeb MJ, Cabral KM, Ruan L (2005) Down-regulation of factor IXa in the factor Xase complex by protein Z-dependent protease inhibitor. J Biol Chem 280: 33819–33825
Hosaka Y, Higuchi T, Tsumagari M et al. (2000) Inhibition of invasion and experimental metastasis of murine melanoma cells by human soluble thrombomodulin. Cancer Lett 161: 231–240
Howley HE, Walker M, Rodger MA (2005) A systematic review of the association between factor V Leiden or prothrombin gene variant and intrauterine growth restriction. Am J Obstet Gynecol 192: 694–708
Huang HC, Shi GY, Jiang SJ et al. (2003) Thrombomodulin-mediated cell adhesion: involvement of its lectin-like domain. J Biol Chem 278: 46750–46759
Isermann B, Hendrickson SB, Hutley K et al. (2001a) Tissue-restricted expression of thrombomodulin in the placenta rescues thrombomodulin-deficient mice from early lethality and reveals a secondary developmental block. Development 128: 827–838
Isermann B, Hendrickson SB, Zogg M et al. (2001b) Endothelium-specific loss of murine thrombomodulin disrupts the protein C anticoagulant pathway and causes juvenile-onset thrombosis. J Clin Invest 108: 537–546
Isermann B, Sood R, Pawlinski R et al. (2003) The thrombomodulin-protein C system is essential for the maintenance of pregnancy. Nat Med 9: 331–337
Isermann B, Vinnikov IA, Madhusudhan T et al. (2007) Activated protein C protects against diabetic nephropathy by inhibiting endothelial and podocyte apoptosis. Nat Med 13: 1349–1358
Ishii S, Mochizuki T, Nagao T et al. (1995) Pharmacokinetics of human activated protein C. 1st communication: plasma concentration and excretion of a lyophilized purified human activated protein C after intravenous administration in the mouse and the rabbit. Arzneimittelforschung 45: 636–644
Jalbert LR, Rosen ED, Moons L et al. (1998) Inactivation of the gene for anticoagulant protein C causes lethal perinatal consumptive coagulopathy in mice. J Clin Invest 102: 1481–1488
Kaneider NC, Leger AJ, Agarwal A et al. (2007) ‚Role reversal' for the receptor PAR1 in sepsis-induced vascular damage. Nat Immunol 8: 1303–1312
Kask L, Trouw LA, Dahlback B et al. (2004)The C4b binding protein-protein S complex inhibits the phagocytosis of apoptotic cells. J Biol Chem 279: 23869–23873
Kerlin BA, Yan SB, Isermann BH et al. (2003) Survival advantage associated with heterozygous factor V Leiden mutation in patients with severe sepsis and in mouse endotoxemia. Blood 102: 3085–3092
Kerschen EJ, Fernandez JA, Cooley BC et al. (2007) Endotoxemia and sepsis mortality reduction by non-anticoagulant activated protein C. J Exp Med 204: 2439–2448
Koyama T, Parkinson JF, Sie P et al. (1991) Different glycoforms of human thrombomodulin. Their glycosaminoglycan-dependent modulato-

ry effects on thrombin inactivation by heparin cofactor II and antithrombin III. Eur J Biochem 198: 563–570

Laszik ZG, Zhou XJ, Ferrell GL et al. (2001) Down-regulation of endothelial expression of endothelial cell protein C receptor and thrombomodulin in coronary atherosclerosis. Am J Pathol 159: 797–802

Lentz SR, Fernandez JA, Griffin JH et al. (1999) Impaired anticoagulant response to infusion of thrombin in atherosclerotic monkeys associated with acquired defects in the protein C system. Arterioscler Thromb Vasc Biol 19: 1744–1750

Li W, Zheng X, Gu JM et al. (2005) Extraembryonic expression of EPCR is essential for embryonic viability. Blood 106: 2716–2722

Liaw PC, Esmon CT, Kahnamoui K et al. (2004) Patients with severe sepsis vary markedly in their ability to generate activated protein C. Blood 104: 3958–3964

Lin J, August P (2005) Genetic thrombophilias and preeclampsia: a meta-analysis. Obstet Gynecol 105: 182–192

Liu D, Cheng T, Guo H et al. (2004) Tissue plasminogen activator neurovascular toxicity is controlled by activated protein C. Nat Med 10: 1379–1383

Lohi O, Urban S, Freeman M (2004) Diverse substrate recognition mechanisms for rhomboids thrombomodulin is cleaved by Mammalian rhomboids. Curr Biol 14: 236–241

Lopez-Sagaseta J, Montes R, Puy C et al. (2007) Binding of factor VIIa to the endothelial cell protein C receptor reduces its coagulant activity. J Thromb Haemost 5: 1817–1824

McMullen BA, Fujikawa K, Kisiel W (1983) The occurrence of beta-hydroxyaspartic acid in the vitamin K-dependent blood coagulation zymogens. Biochem Biophys Res Commun 115: 8–14

Mehta JL, Chen J, Hermonat PL et al. (2006) Lectin-like, oxidized low-density lipoprotein receptor-1 (LOX-1): a critical player in the development of atherosclerosis and related disorders. Cardiovasc Res 69: 36–45

Mosnier LO, Gale AJ, Yegneswaran S et al. (2004) Activated protein C variants with normal cytoprotective but reduced anticoagulant activity. Blood 104: 1740–1744

Mousa SA (2000) Comparative efficacy of different low-molecular-weight heparins (LMWHs) and drug interactions with LMWH: implications for management of vascular disorders. Semin Thromb Hemost 26(Suppl.1): 39–46

Myles T, Nishimura T, Yun TH et al. (2003) Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor, a potential regulator of vascular inflammation. J Biol Chem 278: 51059–51067

Nelken NA, Soifer SJ, O´Keefe J et al. (1992) Thrombin receptor expression in normal and atherosclerotic human arteries. J Clin Invest 90: 1614–1621

Niessen F, Schaffner F, Furlan-Freguia C et al. (2008) Dendritic cell PAR1-S1P3 signalling couples coagulation and inflammation. Nature 452: 654–658

Norstrom E, Thorelli E, Dahlback B (2002) Functional characterization of recombinant FV Hong Kong and FV Cambridge. Blood 100: 524–530

O´Brien PJ, Koi H, Parry S et al. (2003) Thrombin receptors and protease activated receptor-2 in human placentation: receptor activation mediates extravillous trophoblast invasion in vitro. Am J Pathol 163: 1245–1254

O´Brien LA, Richardson MA, Mehrbod SF et al. (2007) Activated protein C decreases tumor necrosis factor related apoptosis-inducing ligand by an EPCR- independent mechanism involving Egr-1/Erk-1/2 activation. Arterioscler Thromb Vasc Biol 27: 2634–2641

Ogawa H, Yonezawa S, Maruyama I et al. (2000) Expression of thrombomodulin in squamous cell carcinoma of the lung: its relationship to lymph node metastasis and prognosis of the patients. Cancer Lett 149: 95–103

Olivot JM, Estebanell E, Lafay M et al. (2001) Thrombomodulin prolongs thrombin-induced extracellular signal-regulated kinase phosphorylation and nuclear retention in endothelial cells. Circ Res 88: 681–687

Ozaki T, Anas C, Maruyama S et al. (2008) Intrarenal administration of recombinant human soluble thrombomodulin ameliorates ischaemic acute renal failure. Nephrol Dial Transplant 23: 110–119

Peterson JJ, Rayburn HB, Lager DJ et al. (1999) Expression of thrombomodulin and consequences of thrombomodulin deficiency during healing of cutaneous wounds. Am J Pathol 155: 1569–1575

Rey E, Kahn SR, David M, IShrier I (2003) Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis Lancet 361: 901–08

Rezaie AR, Sun MF, Gailani D (2006) Contributions of basic amino acids in the autolysis loop of factor XIa to serpin specificity. Biochemistry 45: 9427–9433

Riewald M, Ruf W (2005) Protease activated receptor-1 signaling by activated protein C in cytokine-perturbed endothelial cells is distinct from thrombin signaling. J Biol Chem 280: 19808–19814

Riewald M, Petrovan RJ, Donner A et al. (2002) Activation of endothelial cell protease activated receptor 1 by the protein C pathway. Science 296: 1880–1882

Salomaa V, Wu KK (1999) Soluble thrombomodulin as predictor of incident coronary heart disease. Lancet 354: 1646–1647

Salomaa V, Matei C, Aleksic N et al. (2001) Cross-sectional association of soluble thrombomodulin with mild peripheral artery disease the ARIC study. Atherosclerosis Risk in Communities. Atherosclerosis 157: 309–314

Schenk-Braat EA, Morser J, Rijken DC (2001) Identification of the epidermal growth factor-like domains of thrombomodulin essential for the acceleration of thrombin-mediated inactivation of single-chain urokinase-type plasminogen activator. Eur J Biochem 268: 5562–5569

Shi CS, Shi GY, Chang YS et al. (2005) Evidence of human thrombomodulin domain as a novel angiogenic factor. Circulation 111: 1627–1636

Shibata M, Kumar SR, Amar A et al. (2001) Anti-inflammatory, antithrombotic, and neuroprotective effects of activated protein C in a murine model of focal ischemic stroke. Circulation 103: 1799–1805

Slungaard A, Fernandez JA, Griffin JH et al. (2003) Platelet factor 4 enhances generation of activated protein C in vitro and in vivo. Blood 102: 146–151

Sood R, Kalloway S, Mast AE et al. (2005) Thrombophilia and pregnancy failure: feto-maternal interactions in the vascular bed of the placenta. Thromb Res 115(Suppl.1): 92–94

Sood R, Zogg M, Westrick RJ et al. (2007) Fetal gene defects precipitate platelet-mediated pregnancy failure in factor V Leiden mothers. J Exp Med 204: 1049–1056

Tabata M, Sugihara K, Yonezawa S et al. (1997) An immunohistochemical study of thrombomodulin in oral squamous cell carcinoma and its association with invasive and metastatic potential. J Oral Pathol Med 26: 258–264

Tabatabai A, Fiehler R, Broze GJ Jr (2001) Protein Z circulates in plasma in a complex with protein Z-dependent protease inhibitor. Thromb Haemost 85: 655–660

Tezuka Y, Yonezawa S, Maruyama I et al. (1995) Expression of thrombomodulin in esophageal squamous cell carcinoma and its relationship to lymph node metastasis. Cancer Res 1995 55: 4196–4200

Thorelli E, Kaufman RJ, Dahlback B (1999) Cleavage of factor V at Arg 506 by activated protein C and the expression of anticoagulant activity of factor V. Blood 93: 2552–2558

Tohda G, Oida K, Okada Y et al. (1998) Expression of thrombomodulin in atherosclerotic lesions and mitogenic activity of recombinant thrombomodulin in vascular smooth muscle cells. Arterioscler Thromb Vasc Biol 18: 1861–1869

Tsiang M, Lentz SR, Sadler JE (1992) Functional domains of membrane-bound human thrombomodulin. EGF-like domains four to six and the serine/threonine-rich domain are required for cofactor activity. J Biol Chem 267: 6164–6170

Van de Wouwer M, Plaisance S, De Vriese A et al. (2006) The lectin-like domain of thrombomodulin interferes with complement activation and protects against arthritis. J Thromb Haemost 4: 1813–1824

Wang W, Nagashima M, Schneider M et al. (2000) Elements of the primary structure of thrombomodulin required for efficient thrombin activable fibrinolysis inhibitor activation. J Biol Chem 275: 22942–22947

Warren BL, Eid A, Singer P et al. (2001) Caring for the critically ill patient. High-dose antithrombin III in severe sepsis: a randomized controlled trial. Jama 286: 1869–1878

Waugh JM, Li-Hawkins J, Yuksel E et al. (2000) Thrombomodulin overexpression to limit neointima formation. Circulation 102: 332–337

Weiler H, Isermann BH (2003) Thrombomodulin. J Thromb Haemost 1: 1515–1524

Xue M, Thompson P, Sambrook PN et al. (2006) Activated protein C stimulates expression of angiogenic factors in human skin cells, angiogenesis in the chick embryo and cutaneous wound healing in rodents. Clin Hemorheol Microcirc 34: 153–161

Xue M, Campbell D, Jackson CJ (2007) Protein C is an autocrine growth factor for human skin keratinocytes. J Biol Chem 282: 13610–13616

Yin ZF, Huang ZF, Cui J et al. (2000) Prothrombotic phenotype of protein Z deficiency. Proc Natl Acad Sci USA 97: 6734–6738

Zhang Y, Weiler-Guettler H, Chen J et al. (1998) Thrombomodulin modulates growth of tumor cells independent of its anticoagulant activity. J Clin Invest 101: 1301–1309

Zhang J, Tu Y, Lu L et al. (2008) Protein Z-dependent protease inhibitor deficiency produces a more severe murine phenotype than protein Z deficiency. Blood 111: 4973–4978

Zivelin A, Griffin JH, Xu X et al. (1997) A single genetic origin for a common Caucasian risk factor for venous thrombosis. Blood 89: 397–402

# 26 Antithrombin, Heparinkofaktor II und Protein-C-Inhibitor

*C. Jackson*

*Deutsch von K. Madlener und B. Pötzsch*

## Einleitung

Antithrombin, Heparinkofaktor II und Protein-C-Inhibitor sind direkt wirkende Enzyminhibitoren. Sie gehören zur Familie der Serinproteaseninhibitoren (Serpine), deren inhibitorische Wirkung auf einer irreversiblen Komplexbildung mit der Serinprotease beruht. Zielenzyme von Antithrombin sind die prokoagulatorisch wirkenden Gerinnungsfaktoren Xa (FXa) und Thrombin.

Die daraus resultierende antikoagulatorische Wirkung von Antithrombin ist für die Regulation der plasmatischen Gerinnungsaktivierung von entscheidender Bedeutung. Dies wird durch die Thromboseneigung von Patienten mit einem Antithrombinmangel belegt. Zielenzym von Heparinkofaktor II ist ausschließlich Thrombin, wohingegen der Protein-C-Inhibitor Thrombin und aktiviertes Protein C (aPC) inaktiviert.

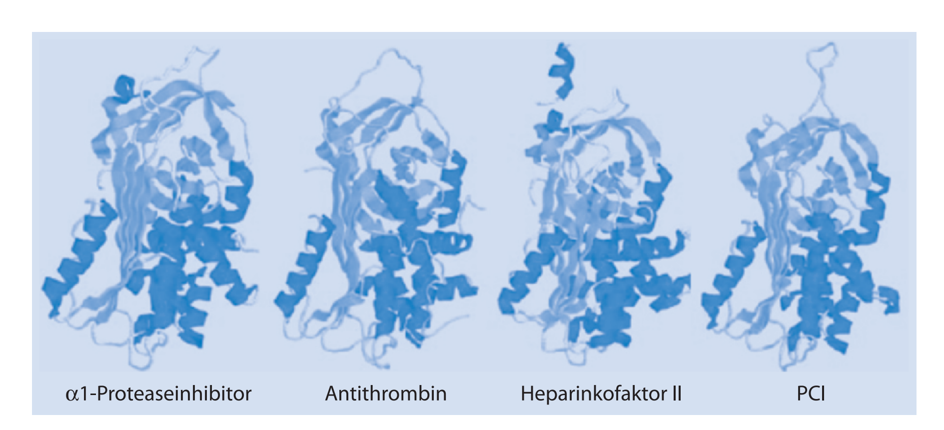
Im Unterschied zu Antithrombin ist die pathophysiologische Bedeutung von Heparinkofaktor II und Protein-C-Inhibitor nicht eindeutig geklärt. Allen 3 Serpinen gemeinsam ist ihre durch Interaktion mit Glykosaminoglykanen, wie z B. Heparin, induzierbare Aktivitätssteigerung, die auf einer Konformationsänderung und einem »Template«-Effekt beruht. Im Fall von Antithrombin wird die Heparinwirkung therapeutisch genutzt.

## 26.1 Serpine

Die Serinproteaseninhibitoren (Serpine) bilden eine Proteinfamilie, deren Mitglieder in fast allen lebenden Organismen zu finden sind und die in der Mehrzahl als direkte Inhibitoren für Serinproteasen wirken (Law et al. 2006; Rau et al. 2007). Einige Serpine fungieren als hormonbindende Proteine oder DNA kondensierende Enzyme. Die Serpine werden in 16 verschiedene Klassen unterteilt, die mit den Buchstaben A–P gekennzeichnet sind. Innerhalb jeder Klasse erfolgt eine Durchnummerierung. In der offiziellen Nomenklatur wird dem Begriff Serpin der Buchstabe der Klasse und die Nummer innerhalb der Klasse angehängt. Nach dieser Nomenklatur ergibt sich für Antithrombin die Bezeichnung SERPINC1 (Silverman et al. 2001).

### 26.1.1 Molekulare Struktur

Serpine bestehen typischerweise aus etwa 400 Aminosäuren mit variablen N- und C-terminalen Ketten (Silverman et al. 2001). Ihr Proteinskelett besteht aus 9 α-Helices, die mit den Buchstaben A–I benannt werden, und aus 3 β-Faltblattstrukturen, die mit A–C bezeichnet werden. In ◘ Abb. 26.1 ist die dreidimensionale Struktur von Antithrombin, Heparinkofaktor II und Protein-C-Inhibitor (PCI) sowie von dem Referenz-Serpin α1-Proteaseinhibitor dargestellt. Die β-Faltblattstruktur A ist im Vordergrund zu erkennen und der »reactive site loop« (RSL) an der Oberseite des Moleküls. Die Darstellung der dreidimensionalen Struktur wurde aus der Röntgenstrukturanalyse mit dem Programm Rasmol abgeleitet. Die Moleküle sind in der Ab-




◘ **Abb. 26.1.** Dreidimensionale Darstellung der antikoagulatorisch wirkenden Serpine α1-Proteaseinhibitor, Antithrombin, Heparinkofaktor II und Protein-C-Inhibitor (*PCI*)

bildung räumlich so ausgerichtet, dass sowohl Strukturhomologien als auch relevante Unterschiede erkennbar werden. α1-Proteaseinhibitor ist das Indexprotein für Serpine und wird dargestellt, weil es für kristallographische Strukturanalytiker als Bezugspunkt gilt.

Der RSL überragt die ansonsten globulär gefalteten Serpinmoleküle und besteht typischerweise aus 20 Aminosäuren (Rau et al. 2007). Die Aminosäuresequenz, die durch die Serinprotease gespalten wird, wird als P1-P1‘ bezeichnet, wobei P1 zum C-terminalen Ende des Proteins ausgerichtet ist. Die den »reactive center loop« flankierenden Aminosäuresequenzen tragen wesentlich zur Proteasenspezifität des jeweiligen Serpins bei.

Durch eine intramolekulare Bindung (RSL an der Heparinbindungsstelle des Moleküls) kann der RSL blockiert werden (Im et al. 2000). Ein auf diese Weise fixiertes Serpin wird als latente Form bezeichnet. Weiterhin können über diese Interaktionsstellen auch intermolekulare Verbindungen mit der Bildung von Dimeren oder noch höheren Oligomeren der Serpine entstehen. Diese nonkovalent miteinander verbundenen Formen können im Plasma nachgewiesen werden, genauso wie das in aktiver und latenter Form vorliegende Serpin. Im Unterschied zur aktiven monomeren Form können die oligomeren Formen nur sehr abgeschwächt oder überhaupt nicht mit der Zielprotease reagieren (Carrel et al. 1991).

Verschiedene Molekülregionen an der Oberfläche der Serpinmoleküle beeinflussen die Reaktivität und Spezifität des Serpins. Diese Regionen befinden sich außerhalb der P1-Region und werden in Analogie zu entsprechenden Regionen auf Proteasen als Exosites bezeichnet

Zwischen den beschriebenen Serpinen besteht in den α-Helixstrukturen eine 26%ige und in den β-Faltblattstrukturen eine 25- bis 30%ige Homologie. Der größte Unterschied in der molekularen Struktur zwischen den verschiedenen Serpinen besteht in den aminoterminalen Enden (Gettins 2002).

Wie fast alle anderen Plasmaproteine sind auch die Serpine Glykoproteine. Durch die Anzahl der Oligosaccharidseitenketten kann die Effizienz der inhibitorischen Wirkung verändert werden. Z. B. kommt Antithrombin in 2 Formen vor, einer mit 3 und einer mit 4 Oligosaccharidseitenketten. Heparin bindet an das Antithrombin mit 3 Oligosaccharidketten mit geringerer Affinität als an die Form mit 4 Seitenketten.

### 26.1.2 Das Grundprinzip der Proteaseninaktivierung durch Serpine

Serpine fungieren gegenüber der Serinprotease als Pseudosubstrate oder »Suizidsubstrate«. Das Serpin wird zunächst vom Enzym als Substrat erkannt (Rau et al. 2007). Dieser Substraterkennung und Bindung folgt zwar die Spaltung einer Peptidbindung, diese führt jedoch nicht zur Dissoziation des Komplexes mit der Freisetzung eines Reaktionsproduktes und des Enzyms, sondern sie wird auf der Ebene des Protease-Substrat-Komplexes, dem sogenannten Michaeliskomplex, fixiert. Die folgende Formel stellt dies dar ($K_d$: Dissoziationskonstante):

$$\text{E (Protease)} + \text{I (Serpin)} \underset{}{\overset{K_d}{\rightleftarrows}} \text{EI (Michaeliskomplex)}$$

In einer enzymkinetischen Reaktion ist die Michaeliskonstante $K_m$ die entscheidende Größe, mit der die Enzym-Substrat-Erkennung und die Substratspezifität quantifiziert werden. In einer Inaktivierungsreaktion wird diese Reaktion über die Dissoziationskonstante $K_d$ quantifiziert. Je kleiner die Konstante, desto höher ist die Bindungsaffinität zwischen beiden Reaktionspartnern.

Der zweite Schritt in der Reaktionsabfolge besteht in der Ausbildung einer kovalenten Bindung zwischen der Protease und dem Serpin und führt zur irreversiblen Inaktivierung der Enzymwirkung (Gettins 2002). Für Enzyme ist die Substratumsetzungskonstante als $k_c$ definiert, für die Inhibierungsreaktionen ist es $k_2$. Die Reaktion folgt einer 1:1-Stöchiometrie, das heißt ein Proteasemolekül wird durch ein Serpinmolekül inaktiviert:

$$\text{EI} \xrightarrow{k_2} \text{EI'}$$

(EI’ würde bei einer Enzymreaktion E+P entsprechen)

Vergleichbar mit der Reaktionskonstanten $k_c/K_m$ für enzymatische Reaktionen beschreibt die Konstante $k_2/K_d$ die Effektivität der Proteaseninaktivierungsreaktion. In Tab. 26.1 wird $k_2$ für verschiedene Serpine mit den jeweiligen Proteasen aufgeführt (vgl. Rau et al. 2007).

In Abb. 26.2 ist die Inaktivierungsreaktion mit den dazugehörigen Reaktionspartnern und Reaktionsprodukten am Beispiel von Thrombin und Antithrombin dargestellt. Die Bildung des Michaeliskomplexes zwischen Thrombin und Antithrombin bringt das aktive Zentrum von Thrombin in unmittelbaren Kontakt mit der Pseudosubstratspaltstelle von Antithrombin, dem RSL. Die Bildung des Komplexes, die mit einer geringen Affinität erfolgt ($K_d$: 7,3×10$^3$ mmol/l), ist noch reversibel. Im nachfolgenden Schritt spaltet Thrombin die P1-P1‘-Aminosäuresequenz im Antithrombinmolekül. Dadurch entsteht eine kovalente Esterbindung zwischen P1 und dem Serin195 der Protease. Gleichzeitig wird eine intramolekulare Strukturänderung des Serpins erzeugt, die dazu führt, dass das an den RSL gebundene Thrombin mit diesem umklappt und in der Nähe der Helix C zu liegen kommt. Als Folge dieser intramolekularen Strukturänderung wandelt sich die β-Falt-

**Tab. 26.1.** Inaktivierungskonstanten für Serpine

| Serpin | Gen-Nomenklatur | Zielenzym | Kofaktor | Inaktivierungskonstante $k_2$ [M] |
|---|---|---|---|---|
| Antithrombin | SERPINC1 | Thrombin | – | $7{,}5\times10^3$ |
| | | | UFH | $2{,}0\times10^7$ |
| | | | LMWH | $5{,}3\times10^6$ |
| | | | Pentasaccharid | $2{,}0\times10^4$ |
| | | FXa | – | $2{,}5\times10^3$ |
| | | | UFH | $5{,}0\times10^6$ |
| | | | LMWH | $1{,}3\times10^6$ |
| | | | Pentasaccharid | $7{,}5\times10^5$ |
| Heparinkofaktor II | SERPIND1 | Thrombin | – | $6{,}0\times10^2$ |
| | | | UFH | $5{,}0\times10^6$ |
| | | | LMWH | $5{,}0\times10^6$ |
| | | | Dermatansulfat | $1{,}0\times10^7$ |
| | | | Hexasaccharid | $2{,}0\times10^4$ |
| Protein-C-Inhibitor | SERPINA5 | Thrombin | – | $1{,}7\times10^4$ |
| | | | UFH | $2{,}0\times10^5$ |
| | | | Thrombomodulin | $2{,}4\times10^6$ |
| | | aPC | – | $3{,}0\times10^2$ |
| | | | UFH | $5{,}0\times10^4$ |

*aPC* aktiviertes Protein C; *LMWH* »low molecular weight heparine«; *UFH* unfraktioniertes Heparin

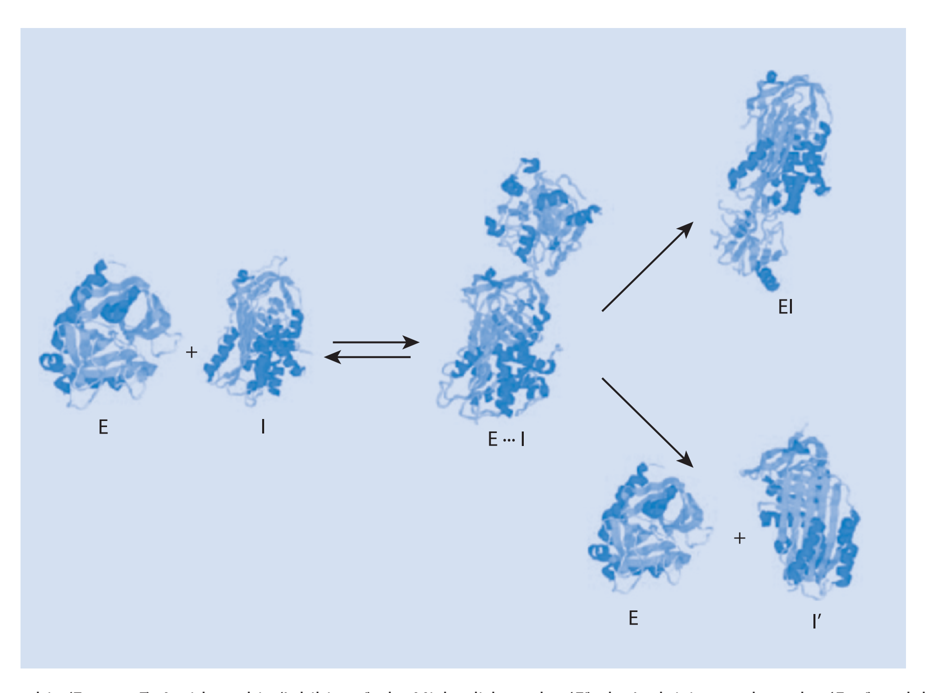



**Abb. 26.2.** Thrombin (Enzym, *E*), Antithrombin (Inhibitor, *I*), der Michaeliskomplex (*EI*), der Inaktivierungskomplex (*E…I*) und der gespaltene Inhibitor (*I′*)

blattstruktur A von einem vierarmigen in ein fünfarmiges Faltblatt, und der Inhibitor ist nicht mehr zugänglich für andere Thrombinmoleküle.

Die entstehenden Zwischenprodukte sind nicht vollständig stabil. Dementsprechend kommt es in geringem Umfang zur Hydrolyse und die theoretische Stöchiometrie von 1:1 wird nicht komplett erreicht. Die Hydrolyse des RSL an P1 führt zur Bildung von freier aktiver Protease und einer modifizierten Form des Serpins, in diesem Beispiel einem modifizierten Antithrombin ($AT_m$). Diese inaktive Form von Antithrombin kann in geringer Konzentration im zirkulierenden Blut nachgewiesen werden.

## 26.1.3 Einfluss von Heparin auf die Serpinwirkung

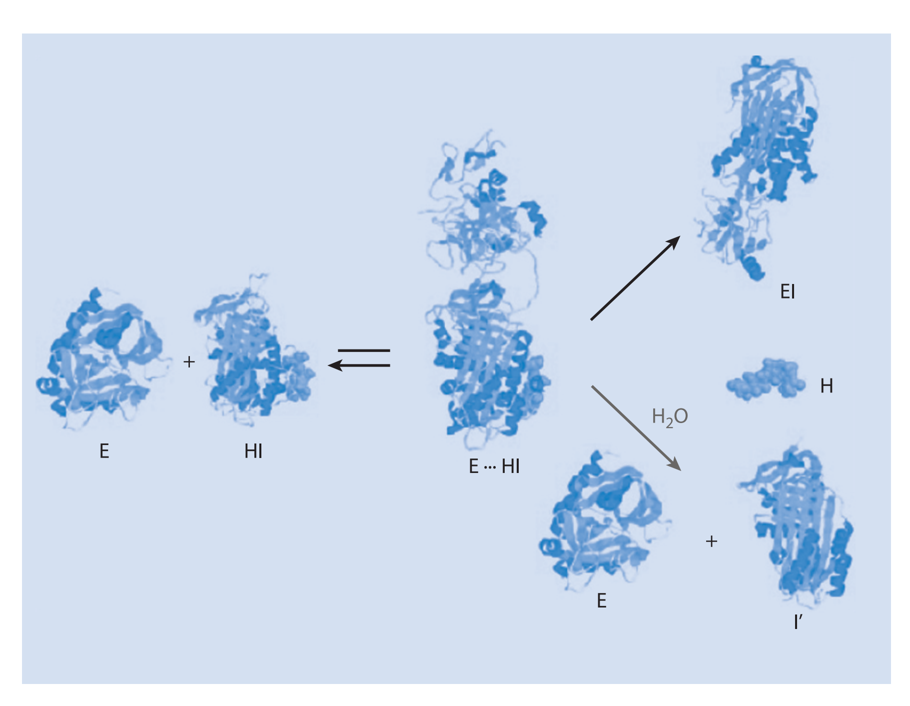
Heparin und andere Glykosaminoglykane beeinflussen die Serpinwirkung, indem sie die Inaktivierungsreaktion der Proteasen beschleunigen. Einige Reaktionen können bis zu 100.000-mal schneller ablaufen. Dabei fungiert Heparin als Katalysator, der sich nach Bildung der Komplexe ablöst und für eine erneute Reaktionsbildung zur Verfügung steht (Gettins 2002).

Die Wechselwirkung von Heparin und anderen Glykosaminoglykanen mit den Serpinen unterscheidet sich für die einzelnen Serpine. Die Heparinwirkung beruht auf 2 Mechanismen: einem allosterischen und einem Template-Mechanismus.

### Allosterischer Heparineffekt

Die zur Aktivitätssteigerung führende allosterische Heparinwirkung ist am besten für die antithrombinvermittelte Inaktivierung von FXa untersucht worden. Heparin bindet spezifisch an Antithrombin und induziert eine intramolekulare Konformationsänderung. Dadurch wird der RSL im Antithrombin-Heparinkomplex für FXa besser zugänglich (◘ Abb. 26.3). Nach Ausbildung eines stabilen Komplexes wird das Heparinmolekül unverändert freigesetzt (Huntington 2003). Theoretisch kann auch für die heparinkatalysierte Inaktivierungsreaktion eine 1:1-Stöchiometrie angenommen werden. Allerdings wird auch in Anwesenheit von Heparin ein geringer Prozentsatz des Antithrombins hydrolysiert und als Produkt dieser Reaktion $AT_m$ gebildet.

Untersuchungen mit Heparinen mit unterschiedlicher molekularer Größe haben gezeigt, dass ein Pentasaccharid als Minimalmotiv für die allosterische Heparinfunktion im Antithrombin ausreichend ist (◘ Abb. 26.4; Huntington 2003). Durch das Pentasaccharid wird die Inaktivierungsreaktion etwa um das 200-fache beschleunigt. Die Pentasaccharidstruktur allein ist aber nicht ausreichend für eine optimale Beschleunigung der FXa-Inaktivierung. Am effektivsten wird FXa durch Antithrombin in Anwesenheit von höhermolekularem Heparin neutralisiert (Rosenberg et al. 1978). Für diese Heparine ist die FXa-inaktivierende Wirkung noch einmal um den Faktor 100 im Vergleich zum Pentasaccharid gesteigert und liegt beim >10.000-fachen, verglichen mit der Reaktion ohne Heparin. Die Ursache für diesen Wirkungsunterschied zwischen dem Pentasaccharid




◘ **Abb. 26.3.** Katalytische Wirkung von Heparin in der FXa-Inaktivierung durch AT. *E* Thrombin (Enzym); *I* Antithrombin (Inhibitor); *HI* Heparin-Inhibitor-Komplex; *E…HI* Michaeliskomplex; *EI* Enzym-Inhibitorkomplex; *H* Heparin; *I′* gespaltener Inhibitor

**Abb. 26.4.** Strukturformel und Molekülmodell des synthetischen Heparins Fondaparinux

und höhermolekularen Heparinen beruht auf dem Template-Effekt.

### Template-Effekt von Heparin

Der Template-Effekt kommt besonders in der Verstärkung der antithrombinvermittelten Inaktivierung von Thrombin zum Tragen. Heparinmoleküle, die größer als 26 Monosaccharideinheiten sind (relative Molekularmasse >8.000), bilden eine molekulare Brücke zwischen Thrombin und Antithrombin (Huntington 2003). Dadurch begünstigen sie die Ausbildung des Michaeliskomplexes und beschleunigen die Inaktivierungsreaktion. Dieser Verstärkermechanismus wird deswegen auch als Matrizeneffekt beschrieben.

## 26.2 Antithrombin: SERPINC1

Das in der Leber synthetisierte Antithrombin ist ein 58 kDa großes Glykoprotein, das aus 432 Aminosäuren aufgebaut ist und im Plasma mit einer Konzentration von 150 µg/ml zirkuliert. Die Halbwertszeit beträgt 3 Tage (Quinsey et al. 2004). Antithrombin kann alle prokoagulatorischen Serinproteasen des plasmatischen Gerinnungssystems inaktivieren. Seine Hauptzielproteasen sind Thrombin, FXa und FIXa. An Fibrin gebundenes Thrombin ist vor Inaktivierung durch Antithrombin geschützt (Hogg u. Jackson 1989).

Die oben detailliert beschriebene Heparinwirkung kommt in vivo wahrscheinlich auf der Endothelzelloberfläche zum Tragen. Endothelständige Heparansulfate verstärken hier die Antithrombinwirkung (Quinsey et al. 2004). Auch das aus Mastzellen freigesetzte endogene Heparin ist antikoagulatorisch wirksam.

Neben seiner gerinnungshemmenden Wirkung sind für Antithrombin eine antiinflammatorische und eine antiangiogene Wirkung beschrieben worden. Diese Eigenschaften sind unabhängig von der antikoagulatorischen Wirkung (McCoy et al. 2003). Sowohl latentes als auch inaktiviertes Antithrombin wirken angiogenesehemmend, indem sie an Heparansulfat binden.

Ein angeborener oder erworbener Antithrombinmangel ist mit einem erhöhten venösen Thromboserisiko verbunden (van Boven u. Lane 1997). Der angeborene Antithrombinmangel wird in einen Typ I und einen Typ II unterteilt. Der Typ I wird durch Mutationen ausgelöst, die zu einer verminderten Syntheserate oder zu einer Störung der Sekretion führen. Dem Typ II liegen Mutationen zugrunde, die funktionelle Bereiche des Antithrombinmoleküls betreffen. Ein Mutationsverzeichnis kann unter der Internet-Adresse http://www1.imperial.ac.uk/medicine/about/divisions/is/haemo/coag/antithrombin eingesehen werden. Die wahrscheinlich häufigste Antithrombinmutation ist die Cambridge-II-Mutation (Corral et al. 2007). Bei Vorliegen dieser Mutation ist die Verstärkung der Thrombininaktivierung durch Heparin geringer als im Wildtyp. Mit den üblichen Routinetests zur Erfassung der Antithrombinaktivität kann Antithrombin Cambridge II nicht erfasst werden (Corral et al. 2007).

## 26.3 Heparinkofaktor II (HCII): SERPIND1

Das 66 kDa große und 480 Aminosäuren lange Serpin wird in der Leber synthetisiert und kommt im Plasma in einer Konzentration von 80 µg/ml mit einer Halbwertszeit von 2–3 Tagen vor (Rau et al. 2007). Im strukturellen Aufbau ist Heparinkofaktor II in hohem Maße mit Antithrombin vergleichbar (Baglin et al. 2002). Genauso wie beim Antithrombinmolekül ist das N-terminale Ende des RSL in die β-Faltblattstruktur A eingebettet. Auch die Heparinbindungsstelle ist im Bereich der Helix D lokalisiert.

Heparinkofaktor II inhibiert Thrombin, aber keine andere Serinprotease im Gerinnungssystem (Tollefsen 2007). Etwa 20–30% der Thrombinneutralisation in vivo erfolgen durch Heparinkofaktor II. Heparin und Dermatansulfat verstärken diese Inhibierung. Das die Thrombinspezifität bestimmende Ende von Heparinkofaktor II bindet in einer hirudinähnlichen Weise an die Exosite I von Thrombin, vermittelt durch hydrophobische Wechselwirkungen.

Ein Heparinkofaktor-II-Mangel ist weder beim Menschen noch im Tiermodell mit einer erhöhten Thromboseneigung verbunden (Tollefson 2002). Allerdings bilden homozygote Knockout-Mäuse schneller okklusive Thromben im fotoinduzierten Karotisthrombosemodell (He et al. 2002). Möglicherweise spielt Heparinkofaktor II eine wichtige Rolle in der extravasalen Regulation der Thrombinwirkung. Erhöhte Plasmaspiegel von Heparinkofaktor II wirken protektiv gegen artherosklerotische Veränderungen und beugen einer Restenose nach gefäßrekonstruktiven Eingriffen vor (Aihara et al. 2004).

Die Verstärkung der Heparinkofaktor-II-vermittelten Inaktivierung von Thrombin ist ein antithrombotischer Therapieansatz, der möglicherweise eine Alternative zu Heparin darstellt. In klinischen Studien wurde 2 verschiedene Dermatansulfatfraktionen mit einer Anreicherung der Hexasaccharidsequenz (Intimatan und Desmin) untersucht (Buchanan u. Brister 2000; Mungall 1999). Weitere HCII-Agonisten, die sich in der Entwicklung befinden, beinhalten übersulfatiertes Dermatansulfat, fukosyliertes Chondroitinsulfat und Fukoidan (Rau et al. 2007).

## 26.4 Protein-C-Inhibitor: SERPINA5

Das 387 Aminosäuren umfassende und 57 kDa große Serpin wird in der Leber synthetisiert. Die Plasmakonzentration beträgt 5 µg/ml (Rau et al. 2007). Außer im Plasma kommt es in unterschiedlichen Körperflüssigkeiten wie dem Urin, dem Speichel, dem Fruchtwasser, der Muttermilch, der Tränenflüssigkeit und der Samenflüssigkeit vor (Laurell et al. 1992). Der Protein-C-Inhibitor ist ein heparinabhängiges Serpin, das mit einer Vielzahl von Serinproteasen Komplexe bildet, zu denen aktiviertes Protein C (aPC), Thrombin, an Thrombomodulin gebundenes Thrombin, »tissue-type plasminogen activator« (t-PA) und »urokinase-type plasminogen activator« (u-PA) gehören. Diese unterschiedlichen Reaktionspartner verdeutlichen, dass Protein-C-Inhibitor sowohl antikoagulatorisch als auch prokoagulatorisch wirken kann.

Im Unterschied zu der sonst üblichen Serpinstruktur ist der RSL von Protein-C-Inhibitor ungewöhnlich lang und beweglich (Baglin et al. 2002). Dies erklärt wahrscheinlich seine geringe Proteasenspezifität. Außerdem findet sich die Heparinbindungsstelle im Bereich der stark basischen Helix H. Möglicherweise erklärt diese Position die unterschiedliche Wirkung, die Heparin auf die PCI-Aktivität hat. Die Inaktivierung von aPC wird in Anwesenheit von Heparin verstärkt, wohingegen die Inaktivierung von Gewebskallikrein blockiert wird (Pike et al. 2005).

Beim Menschen konnte gezeigt werden, dass aPC-PCI-Komplexe bei Patienten mit Atherosklerose und Aortenaneurysmata erhöht waren und einen geeigneten Prognosefaktor für einen schlechteren Outcome darstellten (Kolbel et al. 2006).

## 26.5 α1-Proteaseinhibitor: SERPINA1

Der α1-Proteaseinhibitor, ursprünglich als α1-Antitrypsin bezeichnet, ist ein 51 kDa großes, 394 Aminosäuren umfassendes Glykoprotein, das in der Leber synthetisiert wird. Im Plasma liegt es in einer Konzentration von ungefähr 1,3 mg/ml vor und hat eine Halbwertszeit von 4,5 Tagen (Rau et al. 2007). Seine wichtigste Zielprotease ist die Neutrophilenelastase. Darüber hinaus kann es auch aPC in einem heparinunabhängigen Mechanismus inaktivieren (Heeb u. Griffin 1988).

Generell spielt α1-Proteaseinhibitor nur eine untergeordnete Rolle in der Regulation des Gerinnungsablaufs. Als Ausnahme wurde eine als α1-Pittsburgh bezeichnete Mutante beschrieben, die eine M358R-Mutation im reaktiven Zentrum trägt und eine schwere Blutungsneigung auslösen kann (Owen et al. 1983). Durch die Mutation wird α1-Proteaseinhibitor zu einem potenten Thrombin- und aPC-Inhibitor, der beide Serinproteasen unabhängig von Heparin oder anderen Kofaktoren inaktiviert. Aufgrund dieser Eigenschaften wurde die Eignung von α1-Pittsburgh als Therapeutikum überprüft, aber wieder verworfen, weil es mit vielen verschiedenen Proteasen reagierte.

## 26.6 Protein-Z-abhängiger Proteaseinhibitor:SERPINA10

Der Protein-Z-abhängige Proteaseinhibitor (ZPI) ist ein 444 Aminosäuren langes und 72 kDa großes Serpin, das in der Leber synthetisiert wird und dessen Plasmakonzentra-

tion 1,5 µg/ml beträgt (Rau et al. 2007). In Anwesenheit von Protein Z, Phospholipiden und Kalzium ist ZPI ein schnell wirkender FXa-Inhibitor. In Abwesenheit dieser Kofaktoren wirkt ZPI als ein FXI-Inaktivator, dessen Aktivität durch Heparin verdoppelt werden kann. Vermutlich ist ZPI in die Regulation der Aktivierung der plasmatischen Gerinnungskaskade involviert, bevor der Prothrombinasekomplex gebildet wird (Han et al. 2000). Mutationen im ZPI-Gen sind mit einem erhöhten Risiko für venöse Thrombosen verbunden (Water et al. 2004).



## Literatur


Aihara K, Azuma H, Takamori N et al.(2004) Heparin cofactor II is a novel protective factor against carotid atherosclerosis in elderly individuals. Circulation 109: 2761–2765

Baglin TP, Carrell RW, Church FC et al. (2002) Crystal structures of native and thrombin-complexed heparin cofactor II reveal a multistep allosteric mechanism. Proc Natl Acad Sci USA 99: 11079–11084

Buchanan MR, Brister SJ (2000) Anticoagulant and antithrombin effects of intimatan, a heparin cofactor II agonist. Thromb Res 99: 603–612

Carrell RW, Evans DL, Stein P (1991) Mobile reactive centre of serpins and the control of thrombosis. Nature 353: 576–578

Corral J, Hernandez-Espinosa D, Soria JM et al. (2007) Antithrombin Cambridge II (A384S): an underestimated genetic risk factor for venous thrombosis. Blood 109: 4258–4263

Gettins PG (2002) Serpin structure, mechanism, and function. Chem Rev 102: 4751–4804

Han X, Fiehler R, Broze GJ Jr (2000) Characterization of the protein Z-dependent protease inhibitor. Blood 96: 3049–3055

He L, Vicente CP, Westrick RJ et al. (2002) Heparin cofactor II inhibits arterial thrombosis after endothelial injury. J Clin Invest 109: 213–219

Heeb MJ, Griffin JH (1988) Physiologic inhibition of human activated protein C by alpha 1-antitrypsin. J Biol Chem 263: 11613–11616

Hogg PJ, Jackson CM (1989) Fibrin monomer protects thrombin from inactivation by heparin-antithrombin III: implications for heparin efficacy. Proc Natl Acad Sci USA 86: 3619–3623

Huntington JA (2003) Mechanisms of glycosaminoglycan activation of the serpins in hemostasis. J Thromb Haemost 2003; 1: 1535–1549

Im H, Ahn HY, Yu MH (2000) Bypassing the kinetic trap of serpin protein folding by loop extension. Protein Sci 9: 1497–1502

Kolbel T, Strandberg K, Mattiasson I et al.(2006) Activated protein C-protein C inhibitor complex: a new biological marker for aortic aneurysms. J Vasc Surg 43: 935–939

Laurell M, Christensson A, Abrahamsson PA et al. (1992) Protein C inhibitor in human body fluids. Seminal plasma is rich in inhibitor antigen deriving from cells throughout the male reproductive system. J Clin Invest 89: 1094–1101

Law RH, Zhang Q, McGowan S et al. (2006) An overview of the serpin superfamily. Genome Biol 7: 216

McCoy AJ, Pei XY, Skinner R et al. (2003) Structure of beta-antithrombin and the effect of glycosylation on antithrombin´s heparin affinity and activity. J Mol Biol 326: 823–833

Mungall D (1999) Desmin 370 (Opocrin SpA/Alfa Wassermann). Drugs 2: 27848–27857

Owen MC, Brennan SO, Lewis JH et al. (1983) Mutation of antitrypsin to antithrombin. Alpha-1-antitrypsin Pittsburgh (358 Met to Arg), a fatal bleeding disorder. N Engl J Med 309: 694–698

Pike RN, Buckle AM, le Bonniec BF et al. (2005) Control of the coagulation system by serpins. Getting by with a little help from glycosaminoglycans. FEBS J 272: 4842–4851

Quinsey NS, Greedy AL, Bottomley SP et al. (2004) Antithrombin: in control of coagulation. Int J Biochem Cell Biol 36: 386–389

Rau CT, Beaulieu LM, Huntington JA et al. (2007) Serpins in thrombosis, hemostasis and fibrinolysis. Journal of Thrombosis and Haemostasis 5: 102–115

Rosenberg RD, Armand G, Lam L (1978) Structure-function relationships of heparin species. Proc Natl Acad Sci USA 75: 3065–3069

Silverman GA, Bird PI, Carell RW et al. (2001) The Serpins are an expanding superfamily of structurally similar but functionally diverse proteins: evolution, mechanisms of inhibition, novel functions, and a revised nomenclature. J Biol Chem 276: 33293–33296

Tollefsen DM (2002) Heparin cofactor II deficiency. Arch Pathol Lab Med 126: 1394–1400

Tollefsen DM (2007) Heparin cofactor II modulates the response to vascular injury. Arterioscler Thromb Vasc Biol 27: 454–460

van Boven HH, Lane DA (1997) Antithrombin and its inherited deficiency states. Semin Heamtol 1997; 34: 188–204

Water N, Tan T, Ashton F et al. (2000) Mutations within the protein Z-dependent protease inhibitor. Blood 96: 3049–3055

# Das fibrinolytische System

# 27 Komponenten des fibrinolytischen Systems

*M. Geiger*



## Einleitung

Das fibrinolytische System ist für die Auflösung von Blutgerinnseln und somit für die Wiederherstellung des intravasalen Blutflusses verantwortlich. Außerdem ist es am Matrixabbau bzw. Matrixumbau beteiligt, der für Prozesse wie Wachstum, Gewebereparatur, Tumorinvasion und Metastasierung wichtig ist. Bei den Komponenten des fibrinolytischen Systems handelt es sich hauptsächlich um proteolytische Enzyme, Proteaseinhibitoren und zelluläre Rezeptoren bzw. zellmembranständige Bindungsproteine.

Die proteolytischen Enzyme sind einerseits die Plasminogenaktivatoren »tissue-type plasminogen activator« (t-PA) und Urokinase (u-PA), und andererseits Plasmin, das durch die Wirkung dieser Plasminogenaktivatoren aus Plasminogen entsteht. Proteaseinhibitoren (Plasminogenaktivatorinhibitoren, Plasmininhibitoren) können die Aktivität der Plasminogenaktivatoren und des Plasmins hemmen. Die Bindung von Plasminogenaktivatoren und Plasminogen/Plasmin an zellmembranständige Rezeptoren/Bindungsproteine kann die Proteasen nicht nur an bestimmte Stellen lokalisieren, sondern auch die Aktivierung und Aktivität des fibrinolytischen Systems regulieren.

## 27.1 Serinproteasen

Die an der Fibrinolyse beteiligten proteolytischen Enzyme sind zum Großteil Serinproteasen, die als einkettige Glykoproteine synthetisiert werden (Zusammenfassung ◻ Tab. 27.1). Die einkettigen Formen sind im Allgemeinen Zymogene, die durch proteolytische Spaltung in zweikettige, aktive Proteasen übergeführt werden. In der C-terminalen leichten Kette dieser Proteasen ist das für Serinproteasen typische aktive Zentrum lokalisiert. Ihre spezifischen Eigenschaften erhalten die an der Fibrinolyse beteiligten Serinproteasen durch verschiedene konservierte Molekülabschnitte (Module) in der schweren N-terminalen Kette. Diese funktionell autonomen Domänen, welchen jeweils bestimmte Funktionen zugeschrieben werden können, dürften sich unabhängig durch sog. »exon shuffling« entwickelt haben.

### 27.1.1 Plasminogen/Plasmin

#### Struktur

Das Zymogen Plasminogen ist ein einkettiges Glykoprotein, bestehend aus 791 Aminosäuren (relative Molekularmasse [$M_r$]: 92.000; Review in Castellino u. Ploplis 2005). Durch proteolytische Spaltung der Arg561-Val562-Bindung durch die Plasminogenaktivatoren t-PA oder u-PA entsteht die zweikettige, aktive Serinprotease Plasmin. Die N-terminale schwere Kette enthält 5 Kringledomänen. Kringle sind Peptidstrukturen, die aus jeweils ca. 80 Aminosäuren gebildet werden, welche durch 3 Disulfidbrücken in charakteristischer Weise zusammengehalten werden. Diese Strukturen stellen im Allgemeinen Lysinbindungsstellen dar. Das aktive Zentrum (His603, Asp646 und Ser741) ist in der leichten Kette lokalisiert. Eine andere proteolytische Spaltung, die physiologisch relevant ist, ist die Abspaltung der N-terminalen 77 Aminosäuren, wodurch aus Plasminogen/Plasmin mit der N-terminalen Aminosäure Glutaminsäure (Glu-Plasminogen/Glu-Plasmin) Lys-Plasminogen/Lys-Plasmin entsteht, welches als N-terminale Aminosäure Lysin aufweist.

Plasminogen kann auch durch Elastase gespalten werden. Dadurch entstehen 2 Fragmente: Angiostatin, das die Kringle 1–4 enthält, und Miniplasminogen, das aus der Proteasendomäne und dem Kringle 5 besteht. Plasminogen kann posttranslationell an 4 Stellen glykosyliert werden, wobei im Plasma 2 unterschiedlich glykosylierte Varianten vorkommen. Außerdem kann Plasminogen auch phosphoryliert werden, in erster Linie an Ser578 (Wang et al. 1997).

#### Funktion

Plasminogen ist das Zymogen der Serinprotease Plasmin. Das hauptsächliche Substrat für Plasmin ist Fibrin. Diese Spaltung von Fibrin ist wesentlich für die Auflösung von Gerinnseln. Plasmin spaltet aber auch eine Reihe anderer extrazellulärer Matrixkomponenten, wie z. B. Fibronektin, Proteoglykane oder Gelatine. Außerdem aktiviert Plasmin Promatrixmetalloproteinasen, die in aktiviertem Zustand wiederum Matrixkomponenten abbauen.

#### Molekularbiologie

Das Plasminogen-Gen ist auf Chromosom 6 (6q26-6q27) lokalisiert. Es ist 52 kbp lang und umfasst 19 Exons (Petersen et al. 1990). In der 5′-Region des Plasminogen-Gens befinden sich Elemente, die für die Transkriptionsaktivie-

rung und für die leberspezifische Expression verantwortlich sind (Meroni et al. 1996). Eines dieser Elemente ist eine Erkennungsstelle für den »hepatocyte nuclear factor 1« (HNF-1), ein anderes für Aktivatorprotein-3 (AP-3). Außerdem wurde auch ein auf Interleukin-6 (Il-6) reagierendes Element identifiziert (Jenkins et al. 1997).

#### Expression

Der Hauptsyntheseort für Plasminogen ist die Leber, obwohl auch andere Syntheseorte (z. B. Niere, Nebenniere, Gehirn, Herz, Lunge, Milz und Hoden) in der Literatur beschrieben sind. Die Plasmakonzentration von Plasminogen ist nur geringen Schwankungen unterworfen und liegt bei 160 µg/ml (Schwankungsbereich 100–200 µg/ml).

### 27.1.2 Gewebeplasminogenaktivator (t-PA)

#### Struktur

Gewebeplasminogenaktivator ist eine chymotrypsinartige Serinprotease, die als einkettiges Protein ($M_r$: 70.000) sezerniert wird. Plasmin spaltet eine Peptidbindung (Arg275-Ile276) innerhalb des t-PA-Moleküls und führt dieses in die zweikettige Form über. Im Unterschied zu anderen Serinproteasen ist auch die einkettige t-PA-Form enzymatisch aktiv. Die schwere Kette des t-PA enthält 4 Proteinmodule (Domänen), nämlich eine Fingerdomäne, eine EGF-(»epidermal growth factor«-) homologe Domäne und 2 Kringledomänen. Die C-terminale leichte Kette enthält das aktive Zentrum (His322-Asp371-Ser478).

#### Funktion

Sowohl einkettiger wie auch zweikettiger t-PA sind enzymatisch aktiv und können Plasminogen in Plasmin überführen. Einkettiger und zweikettiger t-PA binden an Fibrin, wobei diese Bindung einerseits über Lysinbindungsstellen in der Kringle-2-Domäne und andererseits lysinunabhängig über die Fingerdomäne erfolgt. An Fibrin gebundener t-PA hat eine viel höhere Affinität für Plasminogen, welches ebenfalls über Lysinbindungsstellen an Fibrin gebunden wird. Dadurch kommt es zu einer dramatischen Steigerung der Plasminogenaktivierung bei Vorhandensein von Fibrin. Die optimale Stimulierung von t-PA wird erst erreicht, wenn Fibrin durch die Wirkung von Plasmin teilweise degradiert ist (Beckmann et al. 1988). Fibringebundener t-PA wird auch wesentlich schlechter durch Plasminogenaktivatorinhibitor 1 (PAI-1) inaktiviert als freier t-PA.

Varianten von t-PA bzw. t-PA selbst werden therapeutisch eingesetzt bzw. erprobt bei Erkrankungen wie Myokardinfarkt, Schlaganfall, Lungenembolie, periphere arterielle Verschlusskrankheit oder tiefe Venenthrombose.

#### Molekularbiologie

Das t-PA-Gen ist auf dem Chromosom 8 lokalisiert und umfasst 14 Exons. In der Promotorregion des t-PA-Gens sind einige funktionell wichtige Elemente identifiziert worden:

- einerseits eine CRE-ähnliche Sequenz (CRE: »cyclic adenosinmonophosphate responsive element«) und eine GC-Box (Bindungsstelle für den Transkriptionsfaktor Sp1), die sowohl bei der konstitutiven wie auch bei der phorbolesterstimulierten t-PA-Transkription kooperieren,
- andererseits eine Region, die eine wichtige Enhancer-Funktion bei der hormonstimulierten t-PA-Transkription hat (Review in Medcalf 2007).

#### Expression

Insbesondere Endothelzellen, Keratinozyten, Osteoblasten, Osteoklasten und Nervenzellen exprimieren t-PA. Auch viele Tumorzellen exprimieren t-PA. Im Plasma zirkulierender t-PA stammt in erster Linie von Endothelzellen. Die normale Plasmakonzentration von t-PA liegt bei 5–10 ng/ml. Sie kann aber sehr stark variieren. Die Expression von t-PA wird durch eine Reihe von Wachstumsfaktoren und Zytokinen reguliert. Sie wird beispielsweise stimuliert durch cAMP, EGF, Phorbolester, Steroidhormone und Retinoide. Gehemmt wird die Expression von t-PA durch Tumornekrosefaktor (TNF).

### 27.1.3 Urokinase (u-PA)

#### Struktur

Urokinase wird als einkettiges Glykoprotein (pro-u-PA, scu-PA) synthetisiert und sezerniert ($M_r$: 54.000; Review in (Crippa 2007)). Aktive Urokinase entsteht durch Spaltung des Zymogens zwischen den Aminosäuren Lys158 und Ile159 durch Plasmin oder andere Proteasen (z. B. Kathepsin B, Kallikrein). Die N-terminale schwere Kette enthält eine EGF- und eine Kringledomäne. Die leichte C-terminale Kette enthält das aktive Zentrum (His204, Asp255, Ser356). Urokinase kann proteolytisch noch weiter modifiziert werden, und zwar durch Spaltung zwischen Lys135 und Lys136. Dabei wird das aminoterminale Fragment (ATF), welches für die Bindung von u-PA an den zellulären u-PA-Rezeptor (u-PAR, ► Kap. 27.4.1) verantwortlich ist, abgespalten. Das verbleibende C-terminale Ende wird als niedermolekulare Urokinase ($M_r$: 33.000) bezeichnet. Urokinase kann posttranslationell modifiziert werden, und zwar durch Glykosylierung (Asn302), Phosphorylierung (Ser138/303) und Fukosylierung (Thr18).

#### Funktion

Das Hauptsubstrat für u-PA ist Plasminogen, welches durch u-PA ebenso wie durch t-PA in die aktive Protease Plasmin übergeführt wird. Daneben kann u-PA aber auch noch an-

dere Proteine spalten und dadurch aktivieren (z. B. »pro-hepatocyte growth factor«; Naldini et al. 1995). Niedermolekulare Urokinase ist enzymatisch voll aktiv, kann jedoch nicht an den Urokinaserezeptor binden. Phosphorylierte Urokinase ist enzymatisch aktiv und bindet auch an u-PAR. An u-PAR gebundene, phosphorylierte Urokinase hat jedoch keine Signalfunktion.

Urokinase wird therapeutisch als Thrombolytikum verwendet – z. B. beim akuten Myokardinfarkt, bei Lungenembolie oder peripherer arterieller Verschlusskrankheit. Sie ist auch ein prognostischer Marker bei verschiedenen Tumoren, wobei ein hoher u-PA-Gehalt in Primärtumoren mit schlechter Prognose einhergeht.

#### Molekularbiologie

Das u-PA-Gen ist auf Chromosom 10 lokalisiert. Es ist 6,4 kbp lang und umfasst 11 Exons. Das erste Exon sowie ein Teil des zweiten Exons und der größte Teil des letzten Exons werden nicht translatiert. Die nichttranslatierte Region von Exon 11 ist jedoch für die Regulation der Stabilität der u-PA-mRNA notwendig (Irigoyen 1999). Der u-PA-Promotor enthält viele für die Regulation der Transkription wichtige Elemente, und viele Signaltransduktionswege sind an der Regulation der u-PA-Expression beteiligt.

#### Expression

Urokinase wird von vielen verschiedenen Zelltypen synthetisiert und unterliegt der Regulation durch eine Vielzahl von Einflüssen, wobei zu erwähnen ist, dass Tumorzellen u-PA auch konstitutiv exprimieren. Die Plasmakonzentration von u-PA beträgt <10 ng/ml.

## 27.2 Proteaseinhibitoren

Bei den an der Regulation der Fibrinolyse beteiligten Proteaseinhibitoren handelt es sich mit Ausnahme von $\alpha_2$-Makroglobulin um Mitglieder der Serpinfamilie. Serpine sind einkettige Glykoproteine ($M_r$: 40.000–60.000), die als Single-Use-Proteaseinhibitoren funktionieren, indem sie ihre Zielproteasen durch die Bildung stabiler, enzymatisch inaktiver 1:1-Enzym-Inhibitor-Komplexe hemmen (Suicide-Substrate-Mechanismus). Serpinmoleküle exponieren eine ganz bestimmte Aminosäuresequenz, den sogenannten »reactive site loop« als Substrat für die jeweilige Zielprotease an der Moleküloberfläche. Die Protease spaltet die Peptidbindung, des reaktiven Zentrums, worauf sich die Konformation des Serpins ändert und der Loop mit der gebundenen Protease in das Molekülinnere verschoben wird. Dadurch wird die Protease in einem kovalenten Komplex mit dem Serpin »gefangen« und ist somit inaktiviert. Sehr langsam kann die Protease – abhängig von der Inhibitor-Protease-Kombination – wieder freigesetzt werden. Sie ist dann aktiv. Das gespaltene Serpin ist in jedem Fall inaktiv. Übereinkunftsmäßig werden die Serpine in Subfamilien (Clades A–P) eingeteilt und innerhalb der Subfamilien numeriert (z. B. SERPINA1 = α1-Antitrypsin; Silverman et al. 2001).

### 27.2.1 Plasminogenaktivatorinhibitor 1 (PAI-1)

#### Struktur

PAI-1 ist ein Serpin der Subfamilie E (E1). Seine relative Molekularmasse ($M_r$) beträgt ca. 50.000 (Review in Dellas u. Loskutoff 2005). Die Aminosäuren des reaktiven Zentrums sind Arg346 und Met347. PAI-1 kommt in vivo in 2 unterschiedlichen Aktivitätszuständen, nämlich in aktiver und latenter Form, vor. Welche der Formen jeweils vorliegt, hängt von der Konformation des »reactive center loop« ab. In der aktiven Konformation ist dieser Loop, wie für hemmende Serpine typisch, an der Oberfläche exponiert und kann daher mit Zielproteasen interagieren. Diese aktive Form wird von Zellen synthetisiert und sezerniert. Sie ist jedoch instabil, und PAI-1 kann spontan in die latente Form übergehen. Bei dieser Form ist der »reactive site loop« in eines der β-Sheets (nämlich in das β-Sheet B) hineingeklappt und daher für die Protease nicht mehr zugänglich. Latenter PAI-1 kann wieder in die aktive Form rückgeführt werden. Dies kann beispielsweise durch denaturierende Substanzen (in vitro) oder durch negativ geladene Phospholipide geschehen (Lambers et al. 1987).

#### Funktion

PAI-1 inaktiviert die Plasminogenaktivatoren t-PA und u-PA mit sehr hohen Reaktionsgeschwindigkeiten (»second order rate constants« $\geq 10^7\ M^{-1}s^{-1}$). Damit ist er der beste Inhibitor sowohl für t-PA wie auch für u-PA. PAI-1 kann auch Thrombin und aktiviertes Protein C inaktivieren. Die Aktivität von PAI-1 kann durch Bindung an Vitronektin stabilisiert werden (Declerck 1988). Außerdem verbessert die Bindung an Vitronektin die Thrombinhemmung durch PAI-1 (Ehrlich 1990). PAI-1 wird durch Oxidanzien sehr leicht inaktiviert (Lawrence u. Loskutoff 1986), was möglicherweise einen Mechanismus darstellt, wie PAI-1 im Bereich von entzündlichen Prozessen inaktiviert werden kann. Komplexe von PAI-1 mit Plasminogenaktivatoren können über Bindung an LRP (»low density lipoprotein receptor-related protein«) in Zellen aufgenommen (Stefansson et al. 1998) und dadurch aus biologischen Systemen (z. B. Plasma) entfernt werden.

#### Molekularbiologie

Das PAI-1-Gen ist auf dem langen Arm von Chromosom 7 lokalisiert. Es ist ca. 12 kbp lang und umfasst 9 Exons. Menschliche Zellen exprimieren 2 verschiedene Messenger-

RNA (mRNA) für PAI-1 (2,3 und 3,2 kbp), die sich in ihrer 3′-untranslatierten Region aufgrund unterschiedlicher Polyadenylierung unterscheiden. In der Promotorregion des PAI-1-Gens sind verschiedene regulatorische Elemente beschrieben worden, darunter ein »glucocorticoid response element«, eine »VLDL site« und 2 Sp1- Bindungsstellen. Es sind auch eine Reihe von Polymorphismen in der Promotorregion des PAI-1 beschrieben, die zum Teil mit unterschiedlichen PAI-1-Plasmaspiegeln korreliert werden können (Francis 2002). Einer dieser Polymorphismen ist ein 4G/5G-(Insertion/Deletion-)Polymorphismus 675 bp oberhalb des Transkriptionsstarts. Personen, die für das 4G-Allel homozygot sind, weisen PAI-1-Plasmaspiegel auf, die um etwa 25% höher liegen als jene von 5G/5G-Individuen.

#### Expression

PAI-1 wird von sehr vielen Zelltypen synthetisiert, inbesondere von Endothelzellen, Hepatozyten und Adipozyten (Vaughan 2005). Auch Thrombozyten können PAI-1 in größeren Mengen synthetisieren (Brogren et al. 2004). PAI-1 ist ein Akute-Phase-Protein; seine Synthese wird durch verschiedene inflammatorische Zytokine, wie z. B. Interleukin-1 oder Tumornekrosefaktor-α (TNF-α), sowie durch Wachstumsfaktoren (z. B. »transforming growth factor β«, TGF-β) und Hormone (z. B. Östrogene, Insulin und Angiotensin II) stimuliert (Vaughan 2005). Die Plasma-PAI-1-Spiegel sind sehr variabel und können zwischen wenigen ng/ml und mehr als 200 ng/ml schwanken. Die PAI-1-Plasmakonzentration weist außerdem charakteristische zirkadiane Schwankungen auf, wobei die höchsten PAI-1-Konzentrationen in den frühen Morgenstunden auftreten, die niedrigsten am Nachmittag. Der Hauptsyntheseort für Plasma-PAI-1 ist nach wie vor nicht klar. Aufgrund der Größe der Organe kommen sowohl die Leber wie auch das Fettgewebe infrage (Dellas u. Loskutoff 2005).

### 27.2.2 Plasmiogenaktivatorinhibitor 2 (PAI-2)

#### Struktur

PAI-2 ist ein Serpin (B2) der Ovalbuminsubfamilie (Clade B) der Serpine, welchen gemeinsam ist, dass sie kein klassisches Signalpeptid besitzen und daher überwiegend intrazellulär lokalisiert sind. Auch PAI-2 kommt größtenteils intrazellulär in nichtglykosilierter Form vor ($M_r$ 47.000), zum Teil wird er auch als glykosiliertes Protein sezerniert ($M_r$ 60.000; Übersicht in Medcalf u. Stasinopoulos 2005). PAI-2 kann spontan Polymere bilden. Während andere Serpine vor allem dann polymerisieren, wenn sie genetisch verändert sind und die Polymerbildung bei diesen Serpinen mit einer Beeinträchtigung der Funktion einhergeht, ist die Polymerisation von PAI-2 keine Folge von Genmutationen. Auch ist sie mit keinen funktionellen Veränderungen verbunden.

#### Funktion

Die einzig bekannte Zielprotease von PAI-2 ist u-PA. Die intrazelluläre, nichtglykosylierte und die sezernierte, glykosylierte PAI-2-Form sind hinsichtlich der u-PA-Hemmung gleich aktiv. Da nur geringe Mengen PAI-2 sezerniert werden, ein Großteil aber intrazellulär vorliegt, wurde vermutet, dass dieser intrazelluläre PAI-2 dann als u-PA-Inhibitor wirksam wird, wenn er bei Zelluntergang freigesetzt wird. Diese Hypothese ist aber nicht belegt, und es ist eher anzunehmen, dass intrazellulärer PAI-2 auch intrazelluläre Funktionen hat.

#### Molekularbiologie

Das PAI-2-Gen ist auf Chromosom 18 lokalisiert und umfasst 8 Exons. Es gehört zu den am stärksten regulierten Genen, wobei die Regulation nicht nur auf der Ebene der Transkription, sondern auch posttranskriptionell, in erster Linie auf Ebene der mRNA-Stabilität, erfolgt.

#### Expression

Die Expression von PAI-2 ist unter Normalbedingungen auf Keratinozyten, aktivierte Monozyten und die Plazenta beschränkt. Andere Gewebe, beispielsweise Zellen neuronalen Ursprungs, zeigen lediglich geringe PAI-2-Expression. PAI-2-Plasmaspiegel sind sehr gering bis nicht nachweisbar. Hohe Plasmakonzentrationen (bis zu 250 ng/ml) treten in der Schwangerschaft auf, wobei dieser PAI-2 aus der Plazenta stammt. Auch bei manchen Formen von monozytären Leukämien können hohe PAI-2-Plasmaspiegel vorkommen. Die Expression von PAI-2 wird durch verschiedene Wachstumsfaktoren (z. B. TGF-β, EGF und M-CSF), Hormone (Retinoide, Glukokortikoide, Vitamin D3) und Zytokine (TNF-α, Interleukin-1, Interleukin-2) induziert. Auch Endotoxin und Phorbolester stimulieren die PAI-2-Expression (Medcalf u. Stasinopoulos 2005). Die Expression von PAI-2 ist somit sehr stark regulatorischen Einflüssen unterworfen.

### 27.2.3 $α_2$-Antiplasmin (SERPINF2)

#### Struktur

$α_2$-Antiplasmin ist ein Serpin (F2) der Subfamilie F ($M_r$: 70.000; Review in Coughlin 2005). Phylogenetisch ist $α_2$-Antiplasmin am nächsten verwandt mit dem nichtinhibitorischen Serpin PEDF (»pigment epithelium derived factor«). Im Vergleich zu anderen Serpinen weist $α_2$-Antiplasmin sowohl am N-terminalen wie auch am C-terminalen Ende Verlängerungen der Peptidkette auf. Die Verlängerung am N-terminalen Ende ist ein Substrat für Gerinnungsfaktor XIIIa und kann mit Fibrin quervernetzt werden. Die Verlängerung am

C-terminalen Ende enthält viele basische Aminosäuren, darunter 4 Lysinreste, die an Kringle 1 und Kringle 4 (mit geringerer Affinität auch an Kringle 2 und Kringle 5) des Plasmins binden, so in einer Art Template-Mechanismus das aktive Zentrum von Plasmin an das reaktive Zentrum von $\alpha_2$-Antiplasmin heranbringen und damit die Interaktion von $\alpha_2$-Antiplasmin mit Plasmin verstärken.

#### Funktion

Das $\alpha_2$-Antiplasmin hemmt Plasmin mit hoher Spezifität und hoher Reaktionsgeschwindigkeit. Der Grund dafür ist eine Plasmin(ogen)bindungsstelle im C-terminalen Molekülabschnitt (siehe oben), an die Plasmin mittels seiner »lysine binding sites« binden kann. Über diese »lysine binding sites« bindet Plasmin(ogen) aber auch an die α-Kette des Fibrins. Dadurch kann $\alpha_2$-Antiplasmin die Bindung von Plasmin(ogen) an Fibrin kompetitiv hemmen. Im Zuge der Gerinnung kommt es dazu, dass $\alpha_2$-Antiplasmin über seinen N-Terminus durch Faktor XIIIa mit Fibrin quervernetzt wird. Mit Fibrin quervernetztes $\alpha_2$-Antiplasmin ist funktionell aktiv und macht daher das Fibringerinnsel dem Abbau durch Plasmin gegenüber resistent. $\alpha_2$-Antiplasmin hemmt mit viel geringerer Reaktionsgeschwindigkeit als Plasmin auch Trypsin, Chymotrypsin sowie andere Proteasen des Gerinnungs- und des Kallikrein-/Kininsystems.

#### Molekularbiologie und Expression

Das $\alpha_2$-Antiplasmin-Gen ist gemeinsam mit dem PEDF-Gen auf Chromosom 17p13 lokalisiert. Die beiden Gene weisen auch eine gemeinsame, konservierte Intron-Exon-Struktur auf, mit der Ausnahme des N-terminalen Endes, wo zwischen Exon 2 und Exon 3 im $\alpha_2$-Antiplasmin-Gen 2 zusätzliche Exons eingefügt sind, die für die N-terminale Verlängerung des $\alpha_2$-Antiplasmin-Proteins kodieren. Das $\alpha_2$-Antiplasmin-Gen umfasst somit 10 Exons, jenes für PEDF nur 8. Die Plasmakonzentration von $\alpha_2$-Antiplasmin beträgt ca. 70 µg/ml (1 µmol/l).

### 27.2.4 Unspezifische Inhibitoren des fibrinolytischen Systems

#### Plasminogenaktivatorinhibitor 3 (PAI-3, Protein-C-Inhibitor, PCI, SERPINA5)

PCI ist ein Serpin (A5) der Antitrypsinsubfamilie A ($M_r$: 57.000). PCI gehört wie Antithrombin und Heparinkofaktor II zu den Heparin bindenden Serpinen, wobei die Heparinbindungsstelle in der H-Helix liegt. Diese Heparinbindungsstelle ist nicht nur für die Bindung von PCI an Heparin wichtig, sondern auch für die Bindung an bestimmte negativ geladene oder oxidierte Phospholipide (Malleier et al. 2007). Die Aminosäuren des reaktiven Zentrums sind Arg354-Ser355.

PCI wurde ursprünglich unabhängig sowohl als Inhibitor für aktiviertes Protein C (Marlar u. Griffin 1980; Suzuki et al. 1983) als auch als Inhibitor für den Plasminogenaktivator Urokinase(Stump et al. 1986; Geiger et al. 1988) beschrieben, daher auch die Bezeichnung als PCI bzw. als PAI-3. PCI ist ein sehr unspezifisches Serpin, das sehr viele Serinproteasen hemmt (Geiger 2007). Heparin und andere Glykosaminoglykane können nicht nur seine Aktivität, sondern auch seine Wirkspezifität modulieren (Ecke et al. 1992). Die Aktivität des PCI kann auch durch bestimmte negativ geladene oder oxidierte Phospholipide stimuliert werden (Malleier et al. 2007).

Das PCI-Gen ist auf Chromosom 14 innerhalb eines Genclusters (14q32.1) lokalisiert, der auch die Gene für α1-Antitrypsin, α1-Antichymotrypsin und kortikosteroidbindendes Globulin (CBG) enthält. Das PCI-Gen umfasst 5 Exons.

PCI wird in sehr vielen Organen und Geweben exprimiert und kommt in den meisten Körperflüssigkeiten und Sekreten vor. Die höchsten Konzentrationen wurden im männlichen Genitaltrakt beschrieben. Die PCI-Plasmakonzentration liegt bei 5 µg/ml, wobei Plasma-PCI in erster Linie aus der Leber stammt. Es ist von Interesse, dass die gewebespezifische Expression von PCI bei unterschiedlichen Spezies nicht gleich ist. So wird PCI in der Maus fast ausschließlich im Reproduktionstrakt synthetisiert und ist in der Maus auch kein Plasmaprotein (Zechmeister-Machhart et al. 1996). Daher lassen Daten, die mithilfe von (Knockout-)Mäusen gewonnen wurden, auch nur sehr bedingt Rückschlüsse auf die biologische Funktion dieses Serpins im humanen System zu.

#### $\alpha_2$-Makroglobulin

Das $\alpha_2$-Makroglobulin ($\alpha_2$M) ist ein Glykoprotein ($M_r$: 720.000), das aus 4 identischen Untereinheiten besteht. $\alpha_2$-Makroglobulin wirkt nicht wie ein Serpin-Typ-Inhibitor, sondern stellt für Proteasen eine Art Falle dar. Die Interaktion von Protease und $\alpha_2$-Makroglobulin ist dadurch charakterisiert, dass $\alpha_2$-Makroglobulin durch die Protease gespalten wird, was zu einer Konformationsänderung führt, die sterisch zwar die Interaktion der Zielprotease mit ihren natürlichen makromolekularen Substraten verhindert, nicht jedoch die Spaltung von Amid- oder Esterbindungen in niedermolekularen Substraten. Gleichzeitig werden gebundene Proteasen auch von der Interaktion mit Serpinen abgeschirmt. Auf diese Art kann $\alpha_2$-Makroglobulin Plasmin, aber auch noch viele andere Proteasen hemmen.

Die eigentliche Funktion von $\alpha_2$-Makroglobulin dürfte aber nicht so sehr in der Hemmung von Proteasen liegen, sondern in deren Entfernung aus der Zirkulation. Die durch proteolytische Spaltung bewirkte Konformationsänderung führt nämlich nicht nur zum »Einschließen« der Protease, sondern auch zur Exposition einer im intakten Molekül

nicht zugänglichen Domäne, die durch zelluläre Rezeptoren erkannt wird. Bindung an diese Rezeptoren führt zur Endozytose des Protease-$\alpha_2$-Makroglobulin-Komplexes. Der am besten charakterisierte Rezeptor, über den dieser Komplex endozytotisch in Zellen aufgenommen wird, ist der LRP/$\alpha_2$M-Rezeptor.

Das $\alpha_2$-Makroglobulin-Gen ist auf Chromosom 12 innerhalb eines Genclusters, zu dem auch $\alpha_2$M-Pseudogen und »pregnancy-zone protein« (PZP) gehören, lokalisiert.

#### Proteasenexin-1

Proteasenexin-1 ist ein Serpin (E2) der Subfamilie E ($M_r$: 44.000). Die Aminosäuren des reaktiven Zentrums sind Arg365 und Ser366. Proteasenexin-1 hemmt Thrombin, Plasmin und Urokinase. Proteasenexin-1 gehört zu den Heparin bindenden Serpinen. Heparin stimuliert die Hemmung von Thrombin durch Proteasenexin-1, hat jedoch keinen Einfluss auf die Hemmung von Urokinase.

Das Proteasenexin-1-Gen ist auf Chromosom 2 lokalisiert und umfasst 9 Exons. Proteasenexin-1 ist in erster Linie ein Serpin der extrazellulären Matrix und des Gehirns und kein Plasmaprotein.

## 27.3 »Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor« (TAFI)

#### Struktur

TAFI ist eine Procarboxypeptidase aus der Familie der Metallocarboxypeptidasen, die dadurch charakterisiert sind, dass ihr aktives Zentrum Zink enthält (Reviews in Bouma u. Meijers 2003; Mosnier u. Bouma 2006). Ganz allgemein hydrolysieren Carboxypeptidasen C-terminale Peptidbindungen. Es hat sich herausgestellt, dass TAFI identisch ist mit den bereits früher beschriebenen Plasmaprocarboxypeptidasen B, U und R, wobei B bedeutet, dass bevorzugt C-terminale basische Aminosäuren abgespalten werden; R bedeutet, dass bevorzugt Arg abgespalten wird und U steht für »unstable«. TAFI wird als Prä-Pro-Peptid synthetisiert. Nach intrazellulärer Abspaltung des Signalpeptids (22 Aminosäuren) besteht das sezernierte Proenzym aus 401 Aminosäuren ($M_r$: 55.000). Durch proteolytische Aktivierung (Spaltung in Position Arg92) entsteht das aktive Enzym TAFIa ($M_r$: 35.000). TAFI ist stark glykosyliert, und zwar im Bereich des N-terminalen Aktivierungspeptids.

#### Funktion

TAFI kann durch Trypsin, Plasmin, Thrombin oder Meizothrombin aktiviert werden. Die Aktivierung erfolgt durch Spaltung in Position Arg92. Die Aktivierung von TAFI durch Thrombin ist nicht sehr effizient und erfordert hohe Thrombinkonzentrationen. Bindung von Thrombin an den endothelialen Rezeptor Thrombomodulin stimuliert jedoch die Aktivierung >1.000-fach (Bouma u. Meijers 2003). TAFIa spaltet vor C-terminalen Arginin- bzw. Lysinresten, wobei er Argininreste bevorzugt. Für die Fibrinolyse bedeutsam ist TAFI, weil er C-terminale Lysinreste von partiell durch Plasmin degradiertem Fibrin abspalten kann. An diese Lysinreste binden sowohl Plasminogen als auch t-PA über ihre Lysinbindungsstellen, was dazu führt, dass fibringebundenes Plasminogen durch ebenfalls fibringebundenen t-PA viel effizienter aktiviert wird als in der flüssigen Phase. Wenn nun TAFI diese C-terminalen Lysinreste abspaltet, geht der stimulierende Effekt von (partiell degradiertem) Fibrin auf die Plasminogenaktivierung durch t-PA verloren. Dadurch kommt es zur Hemmung der Fibrinolyse. Das Zymogen TAFI kann Plasminogen binden, wobei die Affinität für Lys-Plasminogen höher ist als für Glu-Plasminogen. Nach Aktivierung sinkt die Affinität von TAFIa für Plasminogen. Neben seiner antifibrinolytischen Aktivität scheint TAFIa auch eine antiinflammatorische Funktion zu haben, nämlich durch die Inaktivierung von Entzündungsmediatoren (Bradykinin, Komplementfaktoren C3a und C5a) (Myles et al. 2003; Nishimura et al. 2007). Die enzymatische Aktivität von TAFI ist sehr instabil und temperaturempfindlich (Bouma u. Meijers 2003). Die Inaktivierung kommt durch eine spontane Konformationsänderung zustande. TAFIa zirkuliert als Komplex mit $\alpha_2$-Makroglobulin. TAFI kann gehemmt werden durch Zn-Chelatoren (1,10-Phenantrolin, Äthylendiamintetraessigsäure/EDTA), Epsilonaminocapronsäure/EACA, Dithiotreitol, β-Merkaptoäthanol, »potato carboxypeptidase inhibitor«, »4-chloromercuribenzoic acid«, MERGEPTA und ein Peptid aus Hirudo medicinalis.

#### Molekularbiologie und Expression

Das TAFI-Gen ist auf Chromosom 13q14.11 lokalisiert. Es ist 48 kbp lang und besteht aus 11 Exons (Boffa et al. 1999). Der TAFI-Promotor weist keine Consensus-TATA-Sequenz auf. Außerdem sind mehrere Transkriptionsstarts beschrieben. TAFI wird vor allem in der Leber synthetisiert. Die Plasmakonzentration liegt bei 4–15 µg/ml (70–275 nmol/l).

## 27.4 Zelluläre Rezeptoren

### 27.4.1 Urokinaserezeptor (u-PAR)

#### Struktur

Der Urokinaserezeptor wird als einkettiges Polypeptid, bestehend aus 313 Aminosäuren, synthetisiert, wobei die ersten 21 N-terminalen Aminosäuren das Signalpeptid darstellen. Posttranslationell werden auch die 30 carboxyterminalen Aminosäuren abgespalten, und an die Aminosäure Gly283 wird ein Glykosylphosphatidylinositol-(GPI-) Anker angehängt. Über diesen ist u-PAR in der Zellmemb-

**Tab. 27.1.** Faktoren des fibrinolytischen Systems

| Faktor | Molekulare Charakteristik | Aktives/reaktives Zentrum | Plasmakonzentration | Syntheseort | Funktion |
|---|---|---|---|---|---|
| Plasminogen/ Plasmin | Zymogen/ Serinprotease | His603, Asp646 und Ser741 | 100–200 µg/ml | Leber | Spaltung von Fibrin und anderen Proteinen |
| t-PA | Serinprotease | His322, Asp371 und Ser478 | ~5 ng/ml | Endothelzellen, Keratinozyten, Osteoblasten, Osteoklasten, Nervenzellen, Tumorzellen | Plasminbildung |
| u-PA | Serinprotease | His204, Asp255 und Ser356 | ~8 ng/ml | Verschiedene Zelltypen | Plasminbildung |
| PAI-1 | Serpin | Arg346-Met347 | 6–80 ng/ml | Endothelzellen, Leberzellen, Fettzellen | Hemmung von t-PA und u-PA (auch APC und Thrombin) |
| PAI-2 | Serpin | Arg358-Thr359 | <5 ng/ml (in der Schwangerschaft bis zu 250 ng/ml) | Plazenta, aktivierte Monozyten, Keratinozyten | Hemmung von u-PA |
| $\alpha_2$-Antiplasmin | Serpin | Arg364-Met365 | ~70 µg/ml | Leber | Hemmung von Plasmin |
| PAI-3/PCI | Serpin | Arg354-Ser355 | 5 µg/ml | Viele Organe und Gewebe | Hemmung von u-PA, t-PA und vielen anderen Proteasen |
| $\alpha_2$-Makroglobulin | Tetramer, 4 identische Untereinheiten | – | 2–4 mg/ml | Leber | Hemmung von Plasmin und anderen Proteasen |
| Proteasenexin-1 | Serpin | Arg365-Ser366 | – | Astrozyten, glatte Muskelzellen, Endothelzellen, Fibroblasten | Hemmung von Thrombin, u-PA und Plasmin |
| TAFI | Metallocarboxypeptidase | $Zn^{2+}$ | 4–15 µg/ml | Leber | Abspaltung C-terminaler Lysinreste vom Fibrinmolekül; dadurch Entfernung von Bindungsstellen für t-PA und Plasminogen |

*PAI* Plasminogenaktivatorinhibitor, *PCI* Protein-C-Inhibitor, *TAFI* »thrombin activatable fibrinolysis inhibitor«, *t-PA* »tissue-type plasminogen activator«, *u-PA* »urokinase-type plasminogen activator«

ran verankert (Übersichten in Alfano et al. 2005; Montuori et al. 2005). Urokinaserezeptor ($M_r$: 55.000–60.000) weist eine starke, heterogene Glykosylierung auf, die auch die Affinität des Rezeptors für seinen Liganden beeinflusst. Die Primärstruktur des u-PAR zeigt interne Homologien, insbesondere 3 homologe, cysteinreiche Domänen, bestehend aus je ca. 90 Aminosäuren (D1, D2, D3).

### Funktion

Ursprünglich wurde u-PAR als spezifischer, zellulärer Rezeptor für u-PA beschrieben. Die primäre u-PA-Bindungsstelle ist die D1-Domäne, die D2- und D3-Domänen erhöhen jedoch die Bindungsaffinität für u-PA. Zudem kann u-PAR auch Vitronektin (Wei et al. 1994) und gespaltenes (bradykininfreies) hochmolekulares Kininogen (Colman et al. 1997) binden. Die primäre Bindungsstelle für Vitronektin liegt in den D2- und D3-Domänen. Vitronektin kann jedoch nur gebunden werden, wenn auch die D1-Domäne vorhanden ist, also wenn u-PAR intakt ist. Mit einer Reihe von Molekülen der Zelloberfläche kann u-PAR ebenfalls reagieren. Zu diesen gehören Integrine, Glykoprotein 130 (Koshelnick et al. 1997) und u-PAR-assoziiertes Protein (u-PARAP, Endo 180; Behrendt et al. 2000).

An u-PAR-gebundene Urokinase aktiviert Plasminogen viel effizienter als freie Urokinase, was durch eine höhere Affinität (40-fache Abnahme der $K_m$ durch Rezeptorbindung) zustande kommt. Rezeptorgebundene Urokinase kann mit PAI reagieren, und der trimolekulare Komplex u-PAR/u-PA/PAI wird von Zellen internalisiert, wobei freier u-PAR wieder an die Zelloberfläche rezirkulieren kann.

Bindung von u-PA an u-PAR führt nicht nur dazu, dass die Plasminogenaktivatoraktivität auf bestimmte Stellen konzentriert wird, sondern bewirkt auch Aktivierung intrazellulärer Signalmechanismen (▶ Kap. 29). Diese Signalfunktion ist sowohl proteolyseabhängig wie auch proteolyseunabhängig und betrifft vor allem Zelladhäsion, Migration und Proliferation einer Vielzahl von Zellen (Review in Mazzieri u. Blasi 2005).

Zwischen Domäne D1 und Domäne D2 kann u-PAR sehr leicht durch Proteasen (auch durch u-PA) gespalten werden. An der Zellmembran verbleibender, gespaltener u-PAR (D2D3-u-PAR) kann weder u-PA noch Vitronektin binden. D2D3-u-PAR kann auch nicht mehr mit Integrinen interagieren.

Intakter u-PAR kann auch durch glykosylphosphatidylinositolspezifische Phospholipase C oder D von der Zellmembran freigesetzt werden. Der resultierende lösliche u-PAR kann nach wie vor u-PA, Vitronektin und Kininogen binden und mit Integrinen interagieren (Review in Montuori et al. 2005).

#### Molekularbiologie

Das u-PAR-Gen ist auf Chromosom 19q13.1-q13.2 lokalisiert (Borglum et al. 1992). Es umfasst 7 Exons. In der Promotorregion befinden sich – wie bei klassischen Housekeeping-Genen – keine TATA- oder CAAT-Boxen, jedoch multiple Sp1-Motive (Soravia et al. 1995). Ein AP-1-Motiv 184 bp oberhalb des Transkriptionsstarts ist sowohl für die konstitutive als auch für die phorbolesterstimulierte Expression von u-PAR notwendig (Lengyel et al. 1996).

#### Expression

Eine Vielzahl von Zellen und Geweben exprimiert u-PAR. Zu den u-PAR-exprimierenden Zellen gehören verschiedene Leukozyten und Knochenmarkszellen, Endothelzellen, Epithelzellen, Keratinozyten, Plazentazellen sowie die meisten Tumoren. Hinsichtlich der Expression von u-PAR in Tumoren ist nicht völlig geklärt, ob die Expression in den Tumorzellen selbst oder aber in Stromazellen, z. B. Makrophagen, stattfindet. Eine Hinaufregulation der u-PAR-Dichte findet man bei verschiedenen Erkrankungen, in erster Linie im Rahmen von Entzündungen und bei malignen Tumoren. Nur wenige Zellen und Gewebe sind u-PAR-negativ, so z. B. nichtaktivierte B- und T-Lymphozyten oder $CD34^+$-hämatopoetische Stammzellen (Plesner et al. 1994).

### 27.4.2 Plasminogenrezeptoren und -bindungsstellen

Für eine Vielzahl von Zellen sind Zelloberflächenrezeptoren bzw. Bindungsmoleküle für Plasminogen beschrieben. Bei diesen handelt es sich z. B. um α-Enolase, Annexin II (Miles et al. 1991; Felez et al. 1993; Hajjar et al. 1994), TIP49a, Integrin $\alpha_M\beta_2$ und Histon H2B (Herren et al. 2006). Die meisten dieser zellulären Plasminogenbindungsproteine (z. B. α-Enolase) haben als C-terminale Aminosäure Lysin, mit welchem die Kringle des Plasminogenmoleküls interagieren können. An der Zelloberfläche gebundenes Plasminogen wird im Allgemeinen besser aktiviert als freies, und das gebundene, aktive Enzym weist eine höhere Aktivität auf. Es ist außerdem vor der Inaktivierung durch $\alpha_2$-Antiplasmin und $\alpha_2$-Makroglobulin geschützt.

#### Literatur

Alfano D, Franco P, Vocca I et al. (2005) The urokinase plasminogen activator and its receptor: role in cell growth and apoptosis 2. Thromb Haemost 93: 205–211
Beckmann R, Geiger M, Binder BR (1988) Plasminogen activation by tissue plasminogen activator in the presence of stimulating CNBr fragment FCB-2 of fibrinogen is a two-phase reaction. Kinetic analysis of the initial phase of slow plasmin formation. J Biol Chem 263: 7176–7180
Behrendt N, Jensen ON, Engelholm LH et al. (2000) A urokinase receptor associated protein with specific collagen binding properties. J Biol Chem 275: 1993–2002
Boffa MB, Reid TS, Joo E et al. (1999) Characterization of the gene encoding human TAFI (thrombin activatable fibrinolysis inhibitor; plasma procarboxypeptidase B). Biochemistry 38: 6547–6558
Borglum AD, Byskov A, Ragno P et al. (1992) Assignment of the urokinase-type plasminogen activator receptor gene (PLAUR) to chromosome 19q13.1-q13.2. Am J Hum Genet 50: 492–497
Bouma BN, Meijers JC (2003) Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI, plasma procarboxypeptidase B, procarboxypeptidase R, procarboxypeptidase U). J Thromb Haemost 1: 1566–1574
Brogren H, Karlsson L, Andersson M et al. (2004) Platelets synthesize large amounts of active plasminogen activator inhibitor 1. Blood 104: 3943–3948
Castellino FJ, Ploplis VA (2005) Structure and function of the plasminogen/plasmin system. Thromb Haemost 93: 647–654
Colman RW, Pixley RA, Najamunnisa S et al. (1997) Binding of high molecular weight kininogen to human endothelial cells is mediated via a site within domains 2 and 3 of the urokinase receptor. J Clin Invest 100: 1481–1487
Coughlin PB (2005) Antiplasmin: the forgotten serpin? FEBS J 272: 4852–4857
Crippa MP (2007) Urokinase-type plasminogen activator. Int J Biochem Cell Biol 39: 690–694
Declerck PJ, De MM, Alessi MC et al. (1988) Purification and characterization of a plasminogen activator inhibitor 1 binding protein from human plasma. Identification as a multimeric form of S protein (vitronectin). J Biol Chem 263: 15454–15461
Dellas C, Loskutoff DJ (2005) Historical analysis of PAI-1 from its discovery to its potential role in cell motility and disease. Thromb Haemost 93: 631–640
Ecke S, Geiger M, Binder BR (1992) Glycosaminoglycans regulate the enzyme specificity of protein C inhibitor. Ann N Y Acad Sci 667: 84–86
Ehrlich HJ, Gebbink RK, Keijer J et al. (1990) Alteration of serpin specificity by a protein cofactor. Vitronectin endows plasminogen activator inhibitor 1 with thrombin inhibitory properties. J Biol Chem 265: 13029–13035
Felez J, Chanquia CJ, Fabregas P et al. (1993) Competition between plasminogen and tissue plasminogen activator for cellular binding sites. Blood 82: 2433–2441

Francis CW (2002) Plasminogen activator inhibitor-1 levels and polymorphisms. Arch Pathol Lab Med 126: 1401–1404

Geiger M (2007) Protein C inhibitor, a serpin with functions in- and outside vascular biology. Thromb Haemost 97: 343–347

Geiger M, Heeb MJ, Binder BR et al. (1988) Competition of activated protein C and urokinase for a heparin-dependent inhibitor. FASEB J 2: 2263–2267

Hajjar KA, Jacovina AT, Chacko J (1994) An endothelial cell receptor for plasminogen/tissue plasminogen activator. I. Identity with annexin II. J Biol Chem 269: 21191–21197

Herren T, Burke TA, Das R et al. (2006) Identification of histone H2B as a regulated plasminogen receptor. Biochemistry 45: 9463–9474

Irigoyen JP, Munoz-Canoves P, Montero L et al. (1999) The plasminogen activator system: biology and regulation. Cell Mol Life Sci 56: 104–132

Jenkins GR, Seiffert D, Parmer RJ et al. (1997) Regulation of plasminogen gene expression by interleukin-6. Blood 89: 2394–2403

Koshelnick Y, Ehart M, Hufnagl P et al. (1997) Urokinase receptor is associated with the components of the JAK1/STAT1 signaling pathway and leads to activation of this pathway upon receptor clustering in the human kidney epithelial tumor cell line TCL-598. J Biol Chem 272: 28563–28567

Lambers JW, Cammenga M, Konig BW et al. (1987) Activation of human endothelial cell-type plasminogen activator inhibitor (PAI-1) by negatively charged phospholipids. J Biol Chem 262: 17492–17496

Lawrence DA, Loskutoff DJ (1986) Inactivation of plasminogen activator inhibitor by oxidants. Biochemistry 25: 6351–6355

Lengyel E, Wang H, Stepp E et al. (1996) Requirement of an upstream AP-1 motif for the constitutive and phorbol ester-inducible expression of the urokinase-type plasminogen activator receptor gene. J Biol Chem 271: 23176–23184

Malleier JM, Oskolkova O, Bochkov V et al. (2007) Regulation of protein C inhibitor (PCI) activity by specific oxidized and negatively charged phospholipids. Blood 109: 4769–4776

Marlar RA, Griffin JH (1980) Deficiency of protein C inhibitor in combined factor V/VIII deficiency disease. J Clin Invest 66: 1186–1189

Mazzieri R, Blasi F (2005) The urokinase receptor and the regulation of cell proliferation. Thromb Haemost 93: 641–646

Medcalf RL (2007) Fibrinolysis, inflammation, and regulation of the plasminogen activating system. J Thromb Haemost 5 Suppl 1: 132–142

Medcalf RL, Stasinopoulos SJ (2005) The undecided serpin. The ins and outs of plasminogen activator inhibitor type 2. FEBS J 272: 4858–4867

Meroni G, Buraggi G, Mantovani R et al. (1996) Motifs resembling hepatocyte nuclear factor 1 and activator protein 3 mediate the tissue specificity of the human plasminogen gene. Eur J Biochem 236: 373–382

Miles LA, Dahlberg CM, Plescia J et al. (1991) Role of cell-surface lysines in plasminogen binding to cells: identification of alpha-enolase as a candidate plasminogen receptor. Biochemistry 30: 1682–1691

Montuori N, Visconte V, Rossi G et al. (2005) Soluble and cleaved forms of the urokinase-receptor: degradation products or active molecules?3. Thromb Haemost 93: 192–198

Mosnier LO, Bouma BN (2006) Regulation of fibrinolysis by thrombin activatable fibrinolysis inhibitor, an unstable carboxypeptidase B that unites the pathways of coagulation and fibrinolysis. Arterioscler Thromb Vasc Biol 26: 2445–2453

Myles T, Nishimura T, Yun TH et al. (2003) Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor, a potential regulator of vascular inflammation. J Biol Chem 278: 51059–51067

Naldini L, Vigna E, Bardelli A et al. (1995) Biological activation of pro-HGF (hepatocyte growth factor) by urokinase is controlled by a stoichiometric reaction. J Biol Chem 270: 603–611

Nishimura T, Myles T, Piliponsky AM et al. (2007) Thrombin activatable procarboxypeptidase B regulates activated complement C5a in vivo. Blood 109: 1992–1997

Petersen TE, Martzen MR, Ichinose A et al. (1990) Characterization of the gene for human plasminogen, a key proenzyme in the fibrinolytic system. J Biol Chem 265: 6104–6111

Plesner T, Ralfkiaer E, Wittrup M et al. (1994) Expression of the receptor for urokinase-type plasminogen activator in normal and neoplastic blood cells and hematopoietic tissue. Am J Clin Pathol 102: 835–841

Silverman GA, Bird PI, Carrell RW et al. (2001) The serpins are an expanding superfamily of structurally similar but functionally diverse proteins. Evolution, mechanism of inhibition, novel functions, and a revised nomenclature. J Biol Chem 276: 33293–33296

Soravia E, Grebe A, De LP et al. (1995) A conserved TATA-less proximal promoter drives basal transcription from the urokinase-type plasminogen activator receptor gene. Blood 86: 624–635

Stefansson S, Muhammad S, Cheng XF et al. (1998) Plasminogen activator inhibitor-1 contains a cryptic high affinity binding site for the low density lipoprotein receptor-related protein. J Biol Chem 273: 6358–6366

Stump DC, Thienpont M, Collen D (1986) Purification and characterization of a novel inhibitor of urokinase from human urine. Quantitation and preliminary characterization in plasma. J Biol Chem 261: 12759–12766

Suzuki K, Nishioka J, Hashimoto S (1983) Protein C inhibitor. Purification from human plasma and characterization. J Biol Chem 258: 163–168

Vaughan DE (2005) PAI-1 and atherothrombosis. J Thromb Haemost 3: 1879–1883

Wang H, Prorok M, Bretthauer RK et al. (1997) Serine-578 is a major phosphorylation locus in human plasma plasminogen. Biochemistry 36: 8100–8106

Wei Y, Waltz DA, Rao N et al. (1994) Identification of the urokinase receptor as an adhesion receptor for vitronectin. J Biol Chem 269: 32380–32388

Zechmeister-Machhart M, Hufnagl P, Uhrin P et al. (1996) Molecular cloning and tissue distribution of mouse protein C inhibitor (PCI). Immunopharmacology 32: 96–98

# 28 Funktion des fibrinolytischen Systems im Nervensystem und intravasale Fibrinolyse

*J. Wojta*



## Einleitung

Als Hauptaufgabe des t-PA-/Plasminogensystems wurde lange Zeit die intravaskuläre Fibrinolyse gesehen. Mittlerweile ist klar, dass t-PA auch im Nervensystem eine wichtige Rolle in der Regulation physiologischer und pathologischer Vorgänge spielt – z. B. beim Lernen, der Plastizität der Synapsen, der Entstehung von Angst, bei Anfallskrankheiten, bei multipler Sklerose und bei Alzheimer. Zusätzlich soll noch die Rolle von t-PA als therapeutisches Thrombolytikum beim ischämischen Schlaganfall erwähnt werden, die allerdings durch die extravasale neurotoxische Wirkung des t-PA beeinträchtigt wird.

## 28.1 Rolle von t-PA im Gehirn

### 28.1.1 Einleitung

Das fibrinolytische System mit seinen beiden Plasminogenaktivatoren t-PA (»tissue-type plasminogen activator«) und u-PA (»urokinase-type plasminogen activator«), deren Inhibitoren und mit Plasminogen selbst spielt eine wichtige Rolle bei einer Vielzahl physiologischer und pathophysiologischer Prozesse, wie beispielsweise bei der intravaskulären Thrombolyse, beim Tumorwachstum, bei der Metastasierung und bei Gewebsschädigung und -reparatur [1–3]. Die Plasminogenaktivatoren t-PA und u-PA sind Serinproteasen, die das Proenzym Plasminogen in die aktive Protease Plasmin spalten. Plasmin seinerseits spaltet dann Fibrin, aber auch Bestandteile der extrazellulären Matrix.

Beide Plasminogenaktivatoren konnten im Zentralnervensystem nachgewiesen werden. Die Rolle von u-PA im Gehirn ist allerdings noch weitgehend unklar [4]. Daher wird sich dieses Kapitel mit der Rolle des t-PA im Nervensystem befassen. Wie bereits oben erwähnt, aktiviert t-PA Plasminogen zu Plasmin. Im Plasma besteht die Hauptaufgabe von Plasmin in der Spaltung von Fibrin. Damit liegt die Hauptaufgabe des t-PA dort in der Thrombolyse, also in der Auflösung fibrinhaltiger Thromben. Die Aktivität der Plasminogenaktivatoren wird durch spezifische Serinproteaseinhibitoren, die sogenannten Plasminogenaktivatorinhibitoren (PAI), kontrolliert. Die wichtigsten Inhibitoren für t-PA sind PAI-1, PAI-2, der Protein-C-Inhibitor (PCI) und – im Nervensystem – zusätzlich Neuroserpin [2, 5]. Zudem kann die Aktivität von t-PA auch über dessen rasche Clearance über die Leber reguliert werden [6, 7].

Aufgrund seiner fibrinolytischen Eigenschaften wird t-PA in seiner rekombinanten Form als Thrombolytikum nach Herzinfarkt oder beim thrombotischen Schlaganfall verwendet [2]. Allerdings steht zur Behandlung des Schlaganfalls mit t-PA nur ein sehr enges zeitliches Fenster zur Verfügung, da der verspätete Einsatz von t-PA bei diesem Krankheitsbild zur Schädigung des Nervengewebes und zu Blutungskomplikationen führen kann [4].

### 28.1.2 Physiologische Rolle von t-PA im Zentralnervensystem

#### Expression und Regulation von t-PA im Zentralnervensystem

Beim Menschen ist t-PA in verschiedenen Regionen des Zentralnervensystems nachweisbar. So findet sich t-PA in Nerven- und Gliazellen des Neokortex, des Hippokampus, des Hypothalamus und Thalamus, des Zerebellums, in pontinen Kernen, in der Medulla und in sympathischen Ganglien [8]. In der Maus konnte t-PA zusätzlich noch in der Amygdala lokalisiert werden. Aus dieser Verteilung ergibt sich eine mögliche Beteiligung des t-PA an Lernprozessen, Gedächtnisleistungen, an der Entstehung von Angst und Furcht und an der Regulation endokriner Funktionen [8–15].

Die Regulation der Expression von t-PA in Neuronen geschieht auf der Ebene der Translation. Dabei wird durch das sogenannte »cytoplasmatic polyadenylation element binding protein« die Polyadenylierung der für t-PA spezifischen Messenger-RNA (mRNA) reguliert, was in der Folge die Synthese von t-PA auf Proteinebene beeinflusst [16]. Dieser Mechanismus erlaubt einen schnellen Anstieg von t-PA als Antwort auf bestimmte Stimuli. Die Aktivität des freigesetzten t-PA wird dann durch ebenfalls im Zentralnervensystem vorhandene spezifische Inhibitoren wie PAI-1 oder Neuroserpin reguliert.

Der t-PA ist in den Nervenzellen in den Axonendigungen lokalisiert, aus denen er bei Bedarf freigesetzt werden kann. Er moduliert dort über eine Aktivierung der Proteolyse und eine daraus folgende Veränderung der extrazellulären Matrix pathophysiologische Prozesse bei Anfallserkrankungen und bei der Langzeitpotenzierung [9, 17]. Auch in Dendriten wurde t-PA nachgewiesen. Die Freisetzung aus diesen Strukturen ist aber noch nicht eindeutig nachgewiesen [16].

Die Freisetzung des in den axonalen Endigungen enthaltenen t-PA erfolgt durch Depolarisation oder durch Aktivierung von N-Methyl-D-Aspartat-(NMDA-)Rezeptoren via kalziumabhängiger Exozytose [16, 18–22]. Neben Neuronen können auch Gliazellen t-PA freisetzen, und im Fall eines Traumas kann t-PA auch aus den verletzten Blutgefäßen ins Zentralnervensystem gelangen [23].

### Synaptische Plastizität und t-PA

Durch t-PA wird die Aktivität der Synapsen moduliert und die synaptische Plastizität einschließlich des Vorgangs der Langzeitpotenzierung beeinflusst – sowohl während der Embryonalentwicklung als auch im adulten Gehirn [24]. Unter Langzeitpotenzierung, dem molekularen Korrelat des Lernens, versteht man die Stärkung synpatischer Verbindungen durch wiederholte exzitatorische Stimulierung [25]. Es zeigte sich, dass t-PA nach synaptischer Aktivität ansteigt und dass die Hemmung von t-PA die Spätphase der Langzeitpotenzierung negativ beeinflusst.

Ähnliche Ergebnisse sah man bei t-PA-defizienten Mäusen. Erhöhte t-PA-Spiegel hingegen förderten die Langzeitpotenzierung und das Lernen [21, 26]. Durch t-PA generiertes Plasmin spaltet den inaktiven Vorläufer des »brain derived neurotrophic factor« (BDNF) in seine enzymatisch aktive Form. BDNF ist für die Spätphase der Langzeitpotenzierung im Hippokampus essenziell [27]. Außerdem kann das durch t-PA aktivierte Plasmin zur Degradation der extrazellulären Matrix und somit zum Umbau von Synapsen beitragen.

Auf molekularer Ebene erleichtert t-PA die dopaminerge Signalübertragung durch $D_1$-Rezeptoren und fördert im Hippokampus den Kalziumeinstrom via NMDA-Rezeptoren [24]. Es gibt Hinweise, dass dieser Effekt möglicherweise dadurch zustande kommt, dass t-PA direkt die NR1-Untereinheit des NMDA-Rezeptors spaltet. Auch eine Interaktion mit der NR2B-Untereinheit im Zusammenhang mit durch Alkoholentzug ausgelösten Krämpfen wird diskutiert [28, 29].

Wenn t-PA in den extrazellulären Raum sezerniert wird, wird seine Aktivität durch PAI-1 und Neuroserpin, die beide ebenfalls im Zentralnervensystem exprimiert werden, kontrolliert. Neuroserpin findet sich beispielsweise in den axonalen Endigungen und wird bei Depolarisation freigesetzt [5, 30]. Zusätzlich wird die Aktivität des sezernierten t-PA durch dessen Interaktion mit dem »low density lipoprotein receptor-related protein-1« (LRP-1) moduliert. Dieser Rezeptor reguliert die Clearance des t-PA. Die Bindung von t-PA an diesen Rezeptor führt zur Aufregulation von Matrixmetalloproteinase 9 (MMP9), einer Protease, die durch Degradation extrazellulärer Matrix sowohl die Plastizität von Synapsen als auch die Degeneration von Neuronen beeinflussen kann [30]. Zudem führt die Interaktion von t-PA mit LRP-1 zu einer Öffnung der Blut-Hirn-Schranke, die unabhängig von Plasminogen und MMP9 stattfindet, da sie bei an diesen Proteinen defizienten Mäusen zu beobachten ist [31].

Sucht kann als eine Sonderform der synaptischen Plastizität betrachtet werden. Bei morphin- oder alkoholsüchtigen Mäusen zeigte sich eine Erhöhung des t-PA im Nucleus accumbens und im Limbischen System. Außerdem war der Belohnungseffekt bei morphinsüchtigen t-PA- und plasminogendefizienten Mäusen weniger ausgeprägt als bei süchtigen Kontrolltieren [32]. Wie schon oben erwähnt, zeigen t-PA-defiziente Mäuse eine geringere Krampfneigung unter Alkoholentzug. Eine direkte Wirkung des t-PA auf die NR2B-Untereinheit des NMDA-Rezeptors wird dafür verantwortlich gemacht [29].

### Lernen, Gedächtnis und t-PA

Da Langzeitpotenzierung und synaptische Plastizität als molekulares Korrelat des Lernens betrachtet werden und t-PA diese Prozesse entscheidend moduliert, ist ein Einfluss des t-PA auf das Lernen zu erwarten. So fanden sich genmanipulierte Mäuse, die t-PA im Gehirn überexprimierten, bei Labyrinthtests besser zurecht als Kontrolltiere [33]. In diesen Studien führte die Überexpression von t-PA zu erhöhter synaptischer Aktivität und zu einer deutlichen Zunahme der Langzeitpotenzierung im Hippokampus. Bei Ratten fand sich im Kleinhirn ein Anstieg an t-PA, wenn diese Tiere komplexe motorische Abläufe lernten [14]. Im Gegensatz dazu zeigten t-PA-gendefiziente Mäuse klare Lerndefizite im Vergleich zu Kontrolltieren [34]. Ähnliches zeigte sich bei Mäusen, denen der t-PA-Inhibitor PAI-1 infundiert wurde [14].

### Angst und t-PA

Auch im Bereich der Amygdala wurde t-PA gefunden. Die Amygdala reguliert Angst und angstinduziertes Verhalten. An Mäusen zeigte sich, dass t-PA in der Amygdala nach Immobilisierungsstress zunimmt und Veränderungen an den Synapsen und Axonen bewirkt [13]. Mäuse mit einer t-PA-Defizienz hingegen zeigten eine eingeschränkte Antwort auf diese Form von Stress. Sie zeigten in einem Labyrinthtest ein deutlich geringeres Angstverhalten als Antwort auf Stress als Kontrolltiere. Dieser Effekt ist offenbar unabhängig von Plasmin, da plasminogendefiziente Mäuse nicht anders reagierten als Kontrolltiere [35]. Weiters wurde gezeigt, dass die Infusion eines Stresshormons, des Corticotropin Releasing Factor (CRF), in die lateralen Ventrikel zu einem Anstieg des t-PA im Gehirn dieser Tiere führte [35].

## 28.1.3 Pathologische Rolle von t-PA im Zentralnervensystem

### Neurotoxizität und t-PA

Die Injektion von Glutamatanaloga in den Hippokampus führt bei Mäusen zur Schädigung der Nervenzellen in diesem Bereich. Diese Schädigungen sind bei plasminogen- und t-PA-defizienten Mäusen deutlich geringer [36–38]. Auch der t-PA-Inhibitor Neuroserpin oder $\alpha_2$-Antiplasmin, ein Plasmininhibitor, reduzieren den Grad dieser Schädigung bei gleichzeitiger Injektion mit einem Glutamatanalogon [39]. Als Substrat der Neurotoxizität von Plasmin wur-

de Laminin, ein Bestandteil der extrazellulären Matrix, identifiziert. Durch Plasmin gespaltenes Laminin in Kombination mit der exzitotoxischen Wirkung von Glutamat führt zu Anoikis und damit zur Degeneration der betroffenen Neurone [39–42]. Diese Ergebnisse zeigen, dass die extrazelluläre Matrix aktiv an biologischen Prozessen im Nervensystem beteiligt ist und dass das Plasminogenaktivator-/Plasminsystem über die Veränderung der extrazellulären Matrix auf diese Prozesse Einfluss nimmt.

#### Alzheimer und t-PA

Alzheimer ist die am weitesten verbreitete neurodegenerative, zur Demenz führende Erkrankung [43]. Die durch Ablagerung eines Peptids, des sogenannten β-Amyloids, im Parenchym des Zentralnervensystems hervorgerufene Entzündung stellt die zentrale Pathologie dieser Erkrankung dar. In einem Mausmodell der Alzheimererkrankung führte diese Entzündung zu einer erhöhten Expression des PAI-1, die ihrerseits die Aktivität von t-PA reduzierte [44–46]. Plasminogen und t-PA spielen offenbar beim Abbau des β-Amyloids eine wichtige Rolle [46]. Eine Verringerung der Aktivität von t-PA bei Alzheimer kann einen Circulus vitiosus auslösen, bei dem durch den verringerten Abbau des β-Amyloids die daraus resultierende Entzündung zu erhöhter Expression von PAI-1 führt, die ihrerseits in einer verstärkten Hemmung des t-PA resultiert. Dadurch wird wiederum der weitere Abbau des β-Amyloids unterbunden.

#### Anfallskrankheiten und t-PA

Die Expression von t-PA ist in Arealen mit verstärkter Aktivität, beispielsweise bei Anfallskrankheiten, erhöht. Mit der erhöhten elektrischen Aktivität, die sich bei Krampfanfällen über verschiedene Areale des Gehirns ausbreitet, korreliert eine erhöhte Expression von t-PA und später von Neuroserpin in diesen Arealen [9, 39]. Zusätzlich wird die Ausbreitung dieser Aktivität durch das Fehlen von t-PA oder die Gabe von Neuroserpin, nicht aber durch die Gabe von PAI-1 deutlich verlangsamt [39]. Diese Resultate legen eine Rolle für die Interaktion von t-PA mit Neuroserpin bei der Ausbreitung elektrischer Erregung in neuronalen Schaltkreisen nahe. Diese Effekte sind nicht nur von PAI-1 unabhängig, sondern auch von Plasminogen [39].

#### Multiple Sklerose und t-PA

Eine Rolle von t-PA in der Entstehung und Progression der multiplen Sklerose wird ebenfalls diskutiert. Es konnte gezeigt werden, dass t-PA um Fibrinablagerungen in der Umgebung demyelinisierter Axone zu finden ist. Es wird daher eine protektive Rolle des t-PA durch den Abbau dieser Fibrinablagerungen vermutet. In Läsionen des Zentralnervensystems bei multipler Sklerose sind die t-PA-Spiegel in diesen Arealen unverändert, die Spiegel an PAI-1 aber signifikant erhöht. Daher ist die fibrinolytische Aktivität herabgesetzt, was wiederum den Abbau von Fibrinablagerungen in diesen Arealen behindert. Die Fibrinablagerungen tragen dann ihrerseits möglicherweise zur Schädigung der Axone bei multipler Sklerose bei [47].

#### Zerebrale Ischämie und t-PA

Im Zentralnervensystem hat t-PA intra- und extravasale Effekte. Im Rahmen der zerebralen Ischämie können diese Effekte positiv, aber auch negativ sein [48, 49]. Als Thrombolytikum hat t-PA beim ischämischen Schlaganfall klinisches Potenzial. Allerdings ist dabei auch die potenziell schädigende extravasale Wirkung des t-PA im Nervensystem zu berücksichtigen.

In tierexperimentellen Studien, in denen t-PA als Thrombolytikum verwendet wurde, zeigte sich eine deutliche Verringerung des Infarktareals, wenn t-PA wenige Stunden nach dem Beginn der zerebralen Ischämie verabreicht wurde [50]. Bei Schlaganfallpatienten führte t-PA zu einer signifikanten Zunahme des Anteils der beschwerdefreien Patienten nach 3 Monaten [51]. Allerdings wurde in verschiedenen tierexperimentellen Studien eine Schädigung des Nervengewebes nach zerebraler Ischämie durch die neurotoxische Wirkung des t-PA festgestellt [49, 52, 53]. Die Größe des geschädigten Areals war in diesen Tiermodellen bei t-PA-defizienten Mäusen beziehungsweise durch die Gabe des t-PA-Inhibitors Neuroserpin deutlich reduziert [49, 52–54]. Die Beobachtung, dass das Thrombolytikum t-PA zu einer Vergrößerung des Infarktareals führen kann, ist von Plasminogen unabhängig, da eine Vergrößerung des Infarktareals nach zerebraler Ischämie auch bei plasminogendefizienten Mäusen zu sehen war [53]. Außerdem konnte gezeigt werden, dass es durch zerebrale Ischämie im ischämischen Areal zu einer verstärkten Depolarisation der betroffenen Neurone und in der Folge zu einer dadurch ausgelösten Erhöhung der t-PA-Aktivität in solchen Arealen kommt [52]. Interessant ist, dass dieser Anstieg des t-PA von einem vermutlich kompensatorischen Anstieg des t-PA-Inhibitors Neuroserpin gefolgt wird [30].

### 28.1.4 Serpine und t-PA im Zentralnervensystem

Unter verschiedenen pathologischen Bedingungen kommt es im Nervensystem zur Erhöhung der Spiegel von PAI-1 und Neuroserpin. Wie zum Teil bereits weiter oben beschrieben, steigt die Expression von PAI-1 im Gehirn bei Alzheimer deutlich an. Auch exzitotoxische Substanzen führen zu einem Anstieg von PAI-1 im Zentralnervensystem. Dieser Anstieg des PAI-1 führt zu einer Reduktion der Aktivität des t-PA und wird als Kompensationsmechanismus interpretiert, der die Schädigung des Gehirns durch ein Übermaß an t-PA-Aktivität verhindern soll. Eine gesteigerte Ex-

pression von Neuroserpin im Zentralnervensystem wird mit Lernprozessen, der Entstehung von Krampfanfällen und mit der Kontrolle der Integrität der Blut-Hirn-Schranke in Zusammenhang gebracht [47, 55–57]. Punktmutationen im Neuroserpin-Gen sind mit einer neurodegenerativen Erkrankung, der sogenannten »familial encephalopathy with neuroserpin inclusion bodies« (FENIB) assoziiert [58, 59]. Diese Punktmutationen führen zu einer Beeinträchtigung der hemmenden Wirkung von Neuroserpin auf t-PA.

## Literatur


[1] Collen D (1999) The plasminogen (fibrinolytic) system. Thrombosis and haemostasis 82(2): 259–270

[2] Collen D (2001) Ham-Wasserman lecture: role of the plasminogen system in fibrin-homeostasis and tissue remodeling. Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology. Washington (USA): American Society of Hematology, pp 1–9

[3] Carmeliet P, Schoonjans L, Kieckens L et al. (1994) Physiological consequences of loss of plasminogen activator gene function in mice. Nature 368(6470): 419–424

[4] Melchor JP, Strickland S (2005) Tissue plasminogen activator in central nervous system physiology and pathology. Thrombosis and haemostasis 93(4): 655–660

[5] Yepes M, Lawrence DA (2004) Tissue-type plasminogen activator and neuroserpin: a well-balanced act in the nervous system? Trends in cardiovascular medicine 14(5): 173–180

[6] Siao CJ, Tsirka SE (2002) Tissue plasminogen activator mediates microglial activation via its finger domain through annexin II. J Neurosci 22(9): 3352–3358

[7] Hajjar KA, Jacovina AT, Chacko J (1994) An endothelial cell receptor for plasminogen/tissue plasminogen activator. I. Identity with annexin II. The Journal of biological chemistry 269(33): 21191–21197

[8] Teesalu T, Kulla A, Simisker A et al. (2004) Tissue plasminogen activator and neuroserpin are widely expressed in the human central nervous system. Thrombosis and haemostasis 92(2): 358–368

[9] Qian Z, Gilbert ME, Colicos MA et al. (1993) Tissue-plasminogen activator is induced as an immediate-early gene during seizure, kindling and long-term potentiation. Nature 361(6411): 453–457

[10] Seeds NW, Williams BL, Bickford PC (1995) Tissue plasminogen activator induction in Purkinje neurons after cerebellar motor learning. Science 270(5244): 1992–1994

[11] Seeds NW, Basham ME, Haffke SP (1999) Neuronal migration is retarded in mice lacking the tissue plasminogen activator gene. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 96(24): 14118–14123

[12] Salles FJ, Strickland S (2002) Localization and regulation of the tissue plasminogen activator-plasmin system in the hippocampus. J Neurosci 22(6): 2125–2134

[13] Pawlak R, Magarinos AM, Melchor J et al. (2003) Tissue plasminogen activator in the amygdala is critical for stress-induced anxiety-like behavior. Nature neuroscience 6(2): 168–174

[14] Seeds NW, Basham ME, Ferguson JE (2003) Absence of tissue plasminogen activator gene or activity impairs mouse cerebellar motor learning. J Neurosci 23(19): 7368–7375

[15] Rodrigues SM, Schafe GE, LeDoux JE (2004) Molecular mechanisms underlying emotional learning and memory in the lateral amygdala. Neuron 44(1): 75–91

[16] Shin CY, Kundel M, Wells DG (2004) Rapid, activity-induced increase in tissue plasminogen activator is mediated by metabotropic glutamate receptor-dependent mRNA translation. J Neurosci 24(42): 9425–9433

[17] Zhuo M, Holtzman DM, Li Y et al. (2000) Role of tissue plasminogen activator receptor LRP in hippocampal long-term potentiation. J Neurosci 20(2): 542–549

[18] Pittman RN (1985) Release of plasminogen activator and a calcium-dependent metalloprotease from cultured sympathetic and sensory neurons. Developmental biology 110(1): 91–101

[19] Gualandris A, Jones TE, Strickland S et al. (1996) Membrane depolarization induces calcium-dependent secretion of tissue plasminogen activator. J Neurosci 16(7): 2220–2225

[20] Parmer RJ, Mahata M, Mahata S et al. (1997) Tissue plasminogen activator (t-PA) is targeted to the regulated secretory pathway. Catecholamine storage vesicles as a reservoir for the rapid release of t-PA. The Journal of biological chemistry 272(3): 1976–1982

[21] Baranes D, Lederfein D, Huang YY et al. (1998) Tissue plasminogen activator contributes to the late phase of LTP and to synaptic growth in the hippocampal mossy fiber pathway. Neuron 21(4): 813–825

[22] Lochner JE, Honigman LS, Grant WF et al. (2006) Activity-dependent release of tissue plasminogen activator from the dendritic spines of hippocampal neurons revealed by live-cell imaging. Journal of neurobiology 66(6): 564–577

[23] Benchenane K, Lopez-Atalaya JP, Fernandez-Monreal M et al. (2004) Equivocal roles of tissue-type plasminogen activator in stroke-induced injury. Trends in neurosciences 27(3): 155–160

[24] Samson AL, Medcalf RL (2006) Tissue-type plasminogen activator: a multifaceted modulator of neurotransmission and synaptic plasticity. Neuron 50(5): 673–678

[25] Malenka RC, Nicoll RA (1999) Long-term potentiation – a decade of progress? Science 285(5435): 1870–1874

[26] Pawlak R, Nagai N, Urano T et al. (2002) Rapid, specific and active site-catalyzed effect of tissue-plasminogen activator on hippocampus-dependent learning in mice. Neuroscience 113(4): 995–1001

[27] Pang PT, Teng HK, Zaitsev E et al. (2004) Cleavage of proBDNF by tPA/plasmin is essential for long-term hippocampal plasticity. Science 306(5695): 487–491

[28] Nicole O, Docagne F, Ali C et al. (2001) The proteolytic activity of tissue-plasminogen activator enhances NMDA receptor-mediated signaling. Nature medicine 7(1): 59–64

[29] Pawlak R, Melchor JP, Matys T et al. (2005) Ethanol-withdrawal seizures are controlled by tissue plasminogen activator via modulation of NR2B-containing NMDA receptors. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 102(2): 443–448

[30] Berger P, Kozlov SV, Cinelli P et al. (1999) Neuronal depolarization enhances the transcription of the neuronal serine protease inhibitor neuroserpin. Molecular and cellular neurosciences 14(6): 455–467

[31] Wang X, Lee SR, Arai K et al. (2003) Lipoprotein receptor-mediated induction of matrix metalloproteinase by tissue plasminogen activator. Nature medicine 9(10): 1313–1317

[32] Nagai T, Yamada K, Yoshimura M et al. (2004) The tissue plasminogen activator-plasmin system participates in the rewarding effect of morphine by regulating dopamine release. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 101(10): 3650–3655

[33] Madani R, Hulo S, Toni N et al. (1999) Enhanced hippocampal long-term potentiation and learning by increased neuronal expression of tissue-type plasminogen activator in transgenic mice. The EMBO journal 18(11): 3007–3012

[34] Siconolfi LB, Seeds NW (2003) Mice lacking tissue plasminogen activator and urokinase plasminogen activator genes show attenuated matrix metalloproteases activity after sciatic nerve crush. Journal of neuroscience research 74(3): 430–434

[35] Matys T, Pawlak R, Matys E et al. (2004) Tissue plasminogen activator promotes the effects of corticotropin-releasing factor on the amygdala and anxiety-like behavior. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 101(46): 16345–16350
[36] Tsirka SE, Gualandris A, Amaral DG et al. (1995) Excitotoxin-induced neuronal degeneration and seizure are mediated by tissue plasminogen activator. Nature 377(6547): 340–344
[37] Tsirka SE, Rogove AD, Strickland S (1996) Neuronal cell death and tPA. Nature 384(6605): 123–124
[38] Tsirka SE, Bugge TH, Degen JL et al. (1997) Neuronal death in the central nervous system demonstrates a non-fibrin substrate for plasmin. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 94(18): 9779–9781
[39] Yepes M, Sandkvist M, Coleman TA et al. (2002) Regulation of seizure spreading by neuroserpin and tissue-type plasminogen activator is plasminogen-independent. The Journal of clinical investigation 109(12): 1571–1578
[40] Chen ZL, Strickland S (1997) Neuronal death in the hippocampus is promoted by plasmin-catalyzed degradation of laminin. Cell 91(7): 917–925
[41] Chen ZL, Indyk JA, Strickland S (2003) The hippocampal laminin matrix is dynamic and critical for neuronal survival. Molecular biology of the cell 14(7): 2665–2676
[42] Indyk JA, Chen ZL, Tsirka SE et al. (2003) Laminin chain expression suggests that laminin-10 is a major isoform in the mouse hippocampus and is degraded by the tissue plasminogen activator/plasmin protease cascade during excitotoxic injury. Neuroscience 116(2): 359–371
[43] Selkoe DJ, Schenk D (2003) Alzheimer's disease: molecular understanding predicts amyloid-based therapeutics. Annual review of pharmacology and toxicology 43: 545–584
[44] Sutton R, Keohane ME, VanderBerg SR et al. (1994) Plasminogen activator inhibitor-1 in the cerebrospinal fluid as an index of neurological disease. Blood Coagul Fibrinolysis (2): 167–171
[45] Mari D, Parnetti L, Coppola R et al. (1996) Hemostasis abnormalities in patients with vascular dementia and Alzheimer's disease. Thrombosis and haemostasis 75(2): 216–218
[46] Melchor JP, Pawlak R, Strickland S (2003) The tissue plasminogen activator-plasminogen proteolytic cascade accelerates amyloid-beta (Abeta) degradation and inhibits Abeta-induced neurodegeneration. J Neurosci 23(26): 8867–8871
[47] Gveric D, Herrera B, Petzold A et al. (2003) Impaired fibrinolysis in multiple sclerosis: a role for tissue plasminogen activator inhibitors. Brain 126(Pt.7): 1590–1598
[48] Marler JR, Goldstein LB (2003) Medicine. Stroke – tPA and the clinic. Science 301(5640): 1677
[49] Wang YF, Tsirka SE, Strickland S et al. (1998) Tissue plasminogen activator (tPA) increases neuronal damage after focal cerebral ischemia in wild-type and tPA-deficient mice. Nature medicine 4(2): 228–231
[50] Zivin JA, Fisher M, DeGirolami U et al. (1985) Tissue plasminogen activator reduces neurological damage after cerebral embolism. Science 230(4731): 1289–1292
[51] The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group (1995) Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. The New England journal of medicine 333(24): 1581–1587
[52] Yepes M, Sandkvist M, Wong MK et al. (2000) Neuroserpin reduces cerebral infarct volume and protects neurons from ischemia-induced apoptosis. Blood 96(2): 569–576
[53] Nagai N, De Mol M, Lijnen HR et al. (1999) Role of plasminogen system components in focal cerebral ischemic infarction: a gene targeting and gene transfer study in mice. Circulation 99(18): 2440–2444
[54] Cinelli P, Madani R, Tsuzuki N et al. (2001) Neuroserpin, a neuroprotective factor in focal ischemic stroke. Molecular and cellular neurosciences 18(5): 443–457
[55] Yepes M, Lawrence DA (2004) New functions for an old enzyme: nonhemostatic roles for tissue-type plasminogen activator in the central nervous system. Experimental biology and medicine 229(11): 1097–1104
[56] Madani R, Kozlov S, Akhmedov A et al. (2003) Impaired explorative behavior and neophobia in genetically modified mice lacking or overexpressing the extracellular serine protease inhibitor neuroserpin. Molecular and cellular neurosciences 23(3): 473–494
[57] Madani R, Nef S, Vassalli JD (2003) Emotions are building up in the field of extracellular proteolysis. Trends in molecular medicine 9(5): 183–185
[58] Davis RL, Holohan PD, Shrimpton AE et al. (1999) Familial encephalopathy with neuroserpin inclusion bodies. The American journal of pathology 155(6): 1901–1913
[59] Molinari F, Meskanaite V, Munnich A et al. (2003) Extracellular proteases and their inhibitors in genetic diseases of the central nervous system. Human molecular genetics 12(Spec.No.2): R195–R200

## 28.2 Wechselwirkung einzelner Faktoren mit Endothelzellen

### 28.2.1 Einleitung

Im unverletzten und gesunden Gefäß schützt das endogene fibrinolytische System das Kreislaufsystem vor intravaskulärer Fibrinbildung und Thrombosen. Im Rahmen der endogenen Fibrinolyse wird Fibrin durch die Protease Plasmin zu Fibrinspaltprodukten abgebaut. Plasmin entsteht aus dem inaktiven Proenzym Plasminogen durch die Wirkung der beiden Plasminogenaktivatoren t-PA und u-PA, wobei dem t-PA wegen seiner Fibrinspezifität bei der intravaskulären Fibrinolyse eine größere Bedeutung zukommt [5]. Bei der im Rahmen der Wundheilung und bei Reparaturprozessen wichtigen extrazellulären Proteolyse und beim Ab- und Umbau der extrazellulären Matrix dürfte u-PA eine wichtigere Rolle spielen. Reguliert wird die endogene Fibrinolyse einerseits dadurch, dass die Aktivität von Plasmin durch $\alpha_2$-Antiplasmin gehemmt wird. Dazu ist anzumerken, dass $\alpha_2$-Antiplasmin Plasmin in Abwesenheit von Fibrin wesentlich effizienter hemmt. Andererseits wird die Aktivität von u-PA und t-PA durch PAI kontrolliert [6]. Der physiologisch wichtigste Inhibitor für t-PA ist PAI-1 [5]. Endothelzellen synthetisieren sowohl t-PA als auch u-PA und den Inhibitor PAI-1.

### 28.2.2 Endothelzellen und t-PA

Endothelzellen sind der Hauptsyntheseort für t-PA. Sie exprimieren t-PA konstitutiv [7]. Beim Menschen ist t-PA unter anderem im normalen Endothel der Aorta, der Koronararterien, der Arteria mammaria interna und in der Vena

saphena immunologisch nachgewiesen [8–11]. Die Syntheserate ist dabei von der anatomischen Lage der betreffenden Gefäße und ihrer Größe abhängig [11]. Das Gefäßendothel beeinflusst auf 2 Arten den Plasmaspiegel von t-PA. Einerseits kann t-PA bei Bedarf schnell aus einem intrazellulären »storage pool« ins Blut freigesetzt werden. Andererseits kann t-PA unter bestimmten Einflüssen von den Endothelzellen auch neu synthetisiert werden.

Verschiedene Stimuli wie beispielsweise venöser Stau, körperliche Anstrengung, aber auch vasoaktive Substanzen wie Katecholamine, Bradykinin, Substanz P, Metacholin oder Desamino-8-D-Arginin-Vasopressin und inflammatorische Mediatoren wie Tumornekrosefaktor-α (TNF-α) führen zu einer schnellen Freisetzung von t-PA ins Blut. Die Freisetzung erfolgt so schnell, dass eine Neusynthese ausgeschlossen werden kann. Allerdings könnte auch eine durch den jeweiligen Stimulus verringerte Clearance über die Leber zu einer Erhöhung der t-PA-Plasmaspiegel beitragen [5, 11–17]. Die genauen Signaltransduktionswege für die Freisetzung von t-PA aus einem »storage pool« in Endothelzellen sind nicht genau geklärt. Allerdings dürften dabei G-Proteine und eine Erhöhung der intrazellulären Kalziumkonzentration eine Rolle spielen [11, 18, 19]. Außerdem ist der t-PA offenbar nicht, wie ursprünglich vermutet, in den Weibel-Palade-Körperchen, sondern in anderen Vesikeln der Endothelzellen gespeichert [18, 20].

Substanzen wie beispielsweise Thrombin, Histamin, Butyrat, Phorbolesther, »basic fibroblast growth factor«, aktiviertes Protein C, Retinoide und die cholesterinsenkende Medikamentengruppe der Statine erhöhen die Synthese von t-PA in Endothelzellen [5, 21–23]. Interessant ist, dass nur einige dieser Mediatoren, nämlich Histamin und Butyrat, die endotheliale Produktion von t-PA steigern, ohne gleichzeitig auch die Produktion von PAI-1 zu beeinflussen [5, 22]. Auch Mikroorganismen beeinflussen die endotheliale Synthese von t-PA. Bartonella bacilliformis erhöht die Produktion von t-PA in Endothelzellen, während sich die PAI-1-Synthese nicht ändert [24, 25]. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass auch mechanische Einflüsse wie Scherkräfte in turbulenter Strömung zu einer gesteigerten Synthese von t-PA in Endothelzellen führen [26, 27]. Generell sind auch hier die genauen Signaltransduktionswege nicht geklärt. Allerdings scheint die Aktivierung der Proteinkinase C bei manchen dieser Effekte eine Rolle zu spielen [28]. Kürzlich wurden auch Genpolymorphismen identifiziert, die die endotheliale Feisetzung von t-PA beeinflussen [29, 30].

### 28.2.3 Endothelzellen und PAI-1

Unter physiologischen Bedingungen produzieren Endothelzellen in vivo nur geringe Mengen an PAI-1 [31]. Durch Aktivierung, vor allem durch entzündliche Mediatoren, erhöht sich die Synthese von PAI-1 in diesen Zellen dramatisch. Zu den Mediatoren, die die endotheliale Produktion von PAI-1 erhöhen, gehören klassische inflammatorische Mediatoren wie beispielsweise Interleukin-1, TNF-α und Endotoxin. Zudem wird die PAI-1-Synthese in Endothelzellen durch Wachstumsfaktoren wie »transforming growth factor β« und »basic fibroblast growth factor« hochreguliert, was möglicherweise im Rahmen der Wundheilung eine Rolle spielt. Auch Indikatoren eines gestörten Glukosestoffwechsels, wie Glukose selbst, Insulin und Proinsulin, und mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko assoziierte Lipoproteine wie »low density lipoprotein« und Lipoprotein a steigern die endotheliale PAI-1 Synthese.

Neben diesen Faktoren führt auch ein weiterer kardiovaskulärer Risikofaktor, nämlich der potente Vasokonstriktor Angiotensin II zu einer erhöhten Produktion von PAI-1 im Endothel [32–34]. Die Infektion von Endothelzellen mit Chlamydia pneumoniae, einem Mikroorganismus, der möglicherweise an der Entstehung und Progression der Atherosklerose beteiligt ist, führt ebenfalls zu einer gesteigerten Synthese von PAI-1 in diesen Zellen [35]. Auch thermische Einflüsse beeinflussen die endotheliale Produktion von PAI-1. Unter Hyperthermie erhöht sich die PAI-1-Synthese in Endothelzellen [36].

In kultivierten Endothelzellen führte die Zugabe von t-PA in einer Feedback-Schleife zu einer vermehrten Produktion von PAI-1 in diesen Zellen [37]. Auch andere Zelltypen regulieren die Produktion von PAI-1 im Endothel. So führen Makrophagen und glatte Muskelzellen zu einer Steigerung der endothelialen PAI-1-Produktion, während Fibroblasten diese senken [38–40]. Nur wenige Studien konnten Mediatoren identifizieren, die die Synthese von PAI-1 in Endothelzellen verringern. So führen beispielsweise Forskolin und »endothelial cell growth factor« in Kombination mit Heparin zu einer Verringerung der PAI-1-Produktion [32]. Auch die cholesterinsenkende Medikamentengruppe der Statine und der Insulin-Sensitizer Troglitazon senken die Synthese von PAI-1 in Endothelzellen [23, 41]. Weiterhin hemmt Interferon-γ die durch Thrombin oder Endotoxin induzierte PAI-1-Synthese in Endothelzellen [42].

Interessant ist, dass sich PAI-1 nicht auf der Oberfläche von Endothelzellen findet, sondern hauptsächlich unter den Zellen in der extrazellulären Matrix lokalisiert ist [43]. Außerdem konnte gezeigt werden, dass die Menge an sezerniertem PAI-1 in kultivierten Endothelzellen mit der Anzahl der Zellteilungen zunimmt [44]. Ähnliches zeigt sich im Endothel von Klotho-Mäusen, einem Tiermodell des Alterungsprozesses [45].

### 28.2.4 Plasminogenaktivierung an der Endothelzelloberfläche

Kultivierte Endothelzellen binden sowohl t-PA als auch dessen Zielprotease Plasminogen an ihrer Oberfläche. Durch diese Bindung kann t-PA lokal an der Oberfläche des Endothels Plasminogen zu Plasmin aktivieren, welches seinerseits in der Folge Fibrin zu Fibrinspaltprodukten abbauen kann. Die katalytische Aktivität von t-PA und Plasmin bleibt an der Zelloberfläche erhalten, und beide Proteasen sind durch diese Bindung vor der Hemmung durch ihre spezifischen Inhibitoren PAI-1 bzw. $\alpha_2$-Antiplasmin geschützt. Als t-PA/Plasminogen-Korezeptor wurde Annexin II identifiziert [5, 46]. Diese Lokalisierung von t-PA und Plasminogen an der Oberfläche des Endothels ist vermutlich für die Aufrechterhaltung des flüssigen Zustandes des Blutes und bei der Verhinderung der Mikrothrombenentstehung direkt am Endothel von entscheidender Bedeutung.



### 28.2.5 Die intravaskuläre Fibrinolyse und Knockout-Mausmodelle

Fibrinogendefiziente Mäuse zeigten eine erhöhte Blutungsneigung, bei plasminogendefizienten Mäusen trat eine generalisierte Thrombusbildung auf [47–49]. Bei Mäusen ohne t-PA kam es zu einem verzögerten intravaskulären Fibrinabbau nach Gefäßverletzung [50, 51]. Dies unterschied sich bei u-PA-defizienten Mäusen 3 Tage nach der Gefäßverletzung nicht von Wildtypmäusen [50]. Der Fibrinabbau war 3 Wochen nach der Gefäßverletzung im Vergleich zu Kontrolltieren deutlich verzögert [51]. Daraus kann geschlossen werden, dass in einer ersten Phase nach Gefäßverletzung t-PA aus dem Endothel die Hauptrolle im Fibrinabbau spielt, während später u-PA aus Leukozyten diesen Fibrinabbau reguliert.

Mäuse ohne PAI-1 zeigten eine verzögerte Thrombenbildung und eine schnellere Lyse von Thromben nach Gefäßverletzung [50, 52–54]. Mäuse mit einer Defizienz an $\alpha_2$-Antiplasmin reagierten ähnlich auf Gefäßverletzungen und zeigten keine erhöhte Blutungsneigung, was dafür spricht, dass die Hauptfunktion des $\alpha_2$-Antiplasmins in der Regulierung des zirkulierenden Plasmins und der intravaskulären Fibrinauflösung besteht [55, 56].

### Literatur


[1] Cines DB, Pollak ES, Buck CA et al. (1998) Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. Blood 91(10): 3527–3561

[2] van Hinsbergh WM (1997) Endothelial permeability for macromolecules. Mechanistic aspects of pathophysiological modulation. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology 17(6): 1018–1023

[3] Mantovani A, Bussolino F, Introna M (1997) Cytokine regulation of endothelial cell function: from molecular level to the bedside. Immunology today 18(5): 231–240

[4] Etzioni A, Doerschuk CM, Harlan JM (1999) Of man and mouse: leukocyte and endothelial adhesion molecule deficiencies. Blood 94(10): 3281–3288

[5] Lijnen HR, Collen D (1997) Endothelium in hemostasis and thrombosis. Progress in cardiovascular diseases 39(4): 343–350

[6] Nordt TK, Bode C (2000) [Endothelium and endogenous fibrinolysis]. Zeitschrift fur Kardiologie 89(3): 219–226

[7] Kristensen P, Larsson LI, Nielsen LS et al. (1984) Human endothelial cells contain one type of plasminogen activator. FEBS letters 168(1): 33–37

[8] Salame MY, Samani NJ, Masood I et al. (2000) Expression of the plasminogen activator system in the human vascular wall. Atherosclerosis 152(1): 19–28

[9] Padro T, Emeis JJ, Steins M et al. (1995) Quantification of plasminogen activators and their inhibitors in the aortic vessel wall in relation to the presence and severity of atherosclerotic disease. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology 15(7): 893–902

[10] Steins MB, Padro T, Li CX et al. (1999) Overexpression of tissue-type plasminogen activator in atherosclerotic human coronary arteries. Atherosclerosis 145(1): 173–180

[11] Oliver JJ, Webb DJ, Newby DE (2005) Stimulated tissue plasminogen activator release as a marker of endothelial function in humans. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology 25(12): 2470–2479

[12] Labinjoh C, Newby DE, Dawson P et al. (2000) Fibrinolytic actions of intra-arterial angiotensin II and bradykinin in vivo in man. Cardiovascular research 47(4): 707–714

[13] Newby DE, Wright RA, Ludlam CA et al. (1997) An in vivo model for the assessment of acute fibrinolytic capacity of the endothelium. Thrombosis and haemostasis 78(4): 1242–1248

[14] Chia S, Qadan M, Newton R et al. (2003) Intra-arterial tumor necrosis factor-alpha impairs endothelium-dependent vasodilatation and stimulates local tissue plasminogen activator release in humans. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology 23(4): 695–701

[15] Wall U, Jern C, Jern S (1997) High capacity for tissue-type plasminogen activator release from vascular endothelium in vivo. Journal of hypertension 15(12 Pt 2): 1641–1647

[16] Jern C, Selin L, Jern S (1994) In vivo release of tissue-type plasminogen activator across the human forearm during mental stress. Thrombosis and haemostasis 72(2): 285–291

[17] Chandler WL, Levy WC, Veith RC et al. (1993) A kinetic model of the circulatory regulation of tissue plasminogen activator during exercise, epinephrine infusion, and endurance training. Blood 81(12): 3293–3302

[18] Knop M, Gerke V (2002) $Ca^{2+}$ -regulated secretion of tissue-type plasminogen activator and von Willebrand factor in human endothelial cells. Biochimica et biophysica acta 1600(1–2): 162–167

[19] van den Eijnden-Schrauwen Y, Atsma DE, Lupu F et al. (1997) Involvement of calcium and G proteins in the acute release of tissue-type plasminogen activator and von Willebrand factor from cultured human endothelial cells. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology 17(10): 2177–2187

[20] Emeis JJ, van den Eijnden-Schrauwen Y, van den Hoogen CM et al. (1997) An endothelial storage granule for tissue-type plasminogen activator. The Journal of cell biology 139(1): 245–256

[21] Hanss M, Collen D (1987) Secretion of tissue-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor by cultured human endothelial cells: modulation by thrombin, endotoxin, and histamine. The Journal of laboratory and clinical medicine 109(1): 97–104

[22] van Hinsbergh VW, Kooistra T, Emeis JJ et al. (1991) Regulation of plasminogen activator production by endothelial cells: role in fibrinolysis and local proteolysis. International journal of radiation biology 60(1–2): 261–272
[23] Wiesbauer F, Kaun C, Zorn G et al. (2002) HMG CoA reductase inhibitors affect the fibrinolytic system of human vascular cells in vitro: a comparative study using different statins. British journal of pharmacology 135(1): 284–292
[24] Garcia FU, Wojta J, Broadley KN et al. (1990) Bartonella bacilliformis stimulates endothelial cells in vitro and is angiogenic in vivo. The American journal of pathology 136(5): 1125–1135
[25] Garcia FU, Wojta J, Hoover RL (1992) Interactions between live Bartonella bacilliformis and endothelial cells. The Journal of infectious diseases 165(6): 1138–1141
[26] Diamond SL, Eskin SG, McIntire LV et al. (1989) Fluid flow stimulates tissue plasminogen activator secretion by cultured human endothelial cells. Science 243(4897): 1483–1485
[27] Diamond SL, Sharefkin JB, Dieffenbach C et al. (1990) Tissue plasminogen activator messenger RNA levels increase in cultured human endothelial cells exposed to laminar shear stress. Journal of cellular physiology 143(2): 364–371
[28] Levin EG, Santell L (1988) Stimulation and desensitization of tissue plasminogen activator release from human endothelial cells. The Journal of biological chemistry 263(19): 9360–9365
[29] Sartori MT, Saggiorato G, Spiezia L et al. (2003) Influence of the Alu-repeat I/D polymorphism in t-PA gene intron 8 on the stimulated t-PA release after venous occlusion. Clin Appl Thromb Hemost 9(1): 63–69
[30] Ladenvall P, Wall U, Jern S et al. (2000) Identification of eight novel single-nucleotide polymorphisms at human tissue-type plasminogen activator (t-PA) locus: association with vascular t-PA release in vivo. Thrombosis and haemostasis 84(2): 150–155
[31] Sawdey MS, Loskutoff DJ (1991) Regulation of murine type 1 plasminogen activator inhibitor gene expression in vivo. Tissue specificity and induction by lipopolysaccharide, tumor necrosis factor-alpha, and transforming growth factor-beta. The Journal of clinical investigation 88(4): 1346–1353
[32] Loskutoff DJ (1993) A slice of PAI. The Journal of clinical investigation 92(6): 2563
[33] Nordt TK, Klassen KJ, Schneider DJ et al. (1993) Augmentation of synthesis of plasminogen activator inhibitor type-1 in arterial endothelial cells by glucose and its implications for local fibrinolysis. Arterioscler Thromb 13(12): 1822–1828
[34] Vaughan DE, Lazos SA, Tong K (1995) Angiotensin II regulates the expression of plasminogen activator inhibitor-1 in cultured endothelial cells. A potential link between the renin-angiotensin system and thrombosis. The Journal of clinical investigation 95(3): 995–1001
[35] Dechend R, Maass M, Gieffers J et al. (1999) Chlamydia pneumoniae infection of vascular smooth muscle and endothelial cells activates NF-kappaB and induces tissue factor and PAI-1 expression: a potential link to accelerated arteriosclerosis. Circulation 100(13): 1369–1373
[36] Wojta J, Holzer M, Hufnagl P et al. (1991) Hyperthermia stimulates plasminogen activator inhibitor type 1 expression in human umbilical vein endothelial cells in vitro. The American journal of pathology 139(4): 911–919
[37] Fujii S, Lucore CL, Hopkins WE et al. (1990) Induction of synthesis of plasminogen activator inhibitor type-1 by tissue-type plasminogen activator in human hepatic and endothelial cells. Thrombosis and haemostasis 64(3): 412–419
[38] Gallicchio M, Argyriou S, Ianches G et al. (1994) Stimulation of PAI-1 expression in endothelial cells by cultured vascular smooth muscle cells. Arterioscler Thromb 14(5): 815–823
[39] Tipping PG, Davenport P, Gallicchio M et al. (1993) Atheromatous plaque macrophages produce plasminogen activator inhibitor type-1 and stimulate its production by endothelial cells and vascular smooth muscle cells. The American journal of pathology 143(3): 875–885
[40] Zhang JC, Fabry A, Paucz L et al. (1996) Human fibroblasts downregulate plasminogen activator inhibitor type-1 in cultured human macrovascular and microvascular endothelial cells. Blood 88(10): 3880–3886
[41] Nordt TK, Peter K, Bode C et al. (2000) Differential regulation by troglitazone of plasminogen activator inhibitor type 1 in human hepatic and vascular cells. The Journal of clinical endocrinology and metabolism 85(4): 1563–1568
[42] Gallicchio M, Hufnagl P, Wojta J et al. (1996) IFN-gamma inhibits thrombin- and endotoxin-induced plasminogen activator inhibitor type 1 in human endothelial cells. J Immunol 157(6): 2610–2617
[43] Schleef RR, Podor TJ, Dunne E et al. (1990) The majority of type 1 plasminogen activator inhibitor associated with cultured human endothelial cells is located under the cells and is accessible to solution-phase tissue-type plasminogen activator. The Journal of cell biology 110(1): 155–163
[44] Comi P, Chiaramonte R, Maier JA (1995) Senescence-dependent regulation of type 1 plasminogen activator inhibitor in human vascular endothelial cells. Experimental cell research 219(1): 304–308
[45] Takeshita K, Yamamoto K, Ito M et al. (2002) Increased expression of plasminogen activator inhibitor-1 with fibrin deposition in a murine model of aging, »Klotho« mouse. Seminars in thrombosis and hemostasis 28(6): 545–554
[46] Kim J, Hajjar KA (2002) Annexin II: a plasminogen-plasminogen activator co-receptor. Front Biosci 7: d341–d348
[47] Suh TT, Holmback K, Jensen NJ et al. (1995) Resolution of spontaneous bleeding events but failure of pregnancy in fibrinogen-deficient mice. Genes & development 9(16): 2020–2033
[48] Bugge TH, Flick MJ, Daugherty CC et al. (1995) Plasminogen deficiency causes severe thrombosis but is compatible with development and reproduction. Genes & development 9(7): 794–807
[49] Ploplis VA, Carmeliet P, Vazirzadeh S et al. (1995) Effects of disruption of the plasminogen gene on thrombosis, growth, and health in mice. Circulation 92(9): 2585–2593
[50] Matsuno H, Kozawa O, Niwa M et al. (1999) Differential role of components of the fibrinolytic system in the formation and removal of thrombus induced by endothelial injury. Thrombosis and haemostasis 81(4): 601–604
[51] Schafer K, Konstantinides S, Riedel C et al. (2002) Different mechanisms of increased luminal stenosis after arterial injury in mice deficient for urokinase- or tissue-type plasminogen activator. Circulation 106(14): 1847–1852
[52] Farrehi PM, Ozaki CK, Carmeliet P etal. (1998) Regulation of arterial thrombolysis by plasminogen activator inhibitor-1 in mice. Circulation 97(10): 1002–1008
[53] Konstantinides S, Schafer K, Thinnes T et al. (2001) Plasminogen activator inhibitor-1 and its cofactor vitronectin stabilize arterial thrombi after vascular injury in mice. Circulation 103(4): 576–583
[54] Smith LH, Dixon JD, Stringham JR et al. (2006) Pivotal role of PAI-1 in a murine model of hepatic vein thrombosis. Blood 107(1): 132–134
[55] Lijnen HR (2001) Gene targeting in hemostasis. Alpha2-antiplasmin. Front Biosci 6: D239–D247
[56] Lijnen HR, Okada K, Matsuo O et al. (1999) Alpha2-antiplasmin gene deficiency in mice is associated with enhanced fibrinolytic potential without overt bleeding. Blood 93(7): 2274–2281

# 29 Extravasale Proteolyse: Funktion und Interaktion der Faktoren des fibrinolytischen Systems

*B. R. Binder, G. W. Prager*

## Einleitung

Das Urokinase-Urokinaserezeptor-Interaktom stellt einen multimolekularen Komplex dar, welcher aus dem Urokinaserezeptor und den mit ihm direkt interagierenden Molekülen besteht. Die Interaktion kann dabei entweder lateral mit anderen Oberflächenmolekülen oder aber auch durch intrazelluläre Second-Messenger-Moleküle erfolgen. Der direkte Kontakt mit dem Urokinaserezeptor stellt die Grundlage für weitere intermolekulare Aktionen an der Zelloberfläche dar, welche wiederum deren Aktivitätsstatus beeinflusst, eine Voraussetzung für weitere Interaktionen mit anderen Liganden oder intrazellulären Second-Messenger-Molekülen.



## 29.1 Wechselwirkungen einzelner Faktoren

### 29.1.1 Urokinaserezeptor (u-PAR) und Urokinase (u-PA)

Der Urokinaserezeptor (u-PAR) ist ein glykosylphosphatidylinosotol-(GPI-)verankertes Protein, welches in glykosphingolipidhaltigen Membranen angereichert vorliegt. Ca. 20–25% der Rezeptormoleküle befinden sich in diesen detergenzunlöslichen Membranen (lipid rafts), der restliche Teil ist in sog. detergenzlöslichen Membranen zu finden [1]. Dabei dürfte die Homodimerisierung des u-PAR für die Verteilung zwischen den beiden Kompartimenten verantwortlich sein [2]. Durch u-PAR werden mit hoher Affinität (Dissoziationskonstante $K_d$: 1 nmol/l) Prourokinase (scu-PA) sowie aktive Urokinase (u-PA) an der Zelloberfläche gebunden [3]. Der u-PAR selbst besteht aus 3 Domänen, wobei die u-PA-Bindungsseite aus Motiven aller 3 Domänen besteht [4]. Trotz der vordringlichen Rolle der Domäne 1 des u-PAR sind daher für die hochaffine Bindung von ATF (*A*mino*t*erminales *F*ragment der Urokinase) oder u-PA alle 3 Rezeptordomänen notwendig [5–7].

Die unlängst publizierte Röntgenstrukturanalyse des u-PAR zeigte, dass dieser u-PA an eine aus allen 3 Domänen bestehende Tasche bindet. Andererseits ist die äußere Struktur des u-PAR für andere Interaktionspartner – wie z. B. Integrine, »epidermal growth factor receptor« (EGFR), »formyl peptide receptor« (FPR) – frei zugänglich. Membranverankerter u-PAR kann zwischen Domäne 1 und Domäne 2 gespalten werden, sodass ein GPI-verankerter Domäne-2,3-Rezeptor übrig bleibt [8, 9]. Wenn jedoch der GPI-Anker gekappt wird, so findet man einen löslichen u-PAR (su-PAR) vor, welcher wiederum entweder gespalten (D2,3) oder ungespalten (D1,2,3) vorliegen kann. All diese verschiedenen Formen des u-PAR verfügen über funktionelle biologische Aktivitäten, welche von Monturi und Ragno zusammenfassend beschrieben wurden [10]. Zudem kann u-PAR nach u-PA-PAI-1-Bindung (PAI-1: »plasminogen activator inhibitor-1«) internalisiert und in weiterer Folge an die Oberfläche rückverteilt werden (Recycling); ein Vorgang, welcher die Interaktion mit dem spezifischen Transmembranprotein »low density lipoprotein receptor related protein« (LRP) [11] oder aber mit dem ligandenunabhängigen Internalisierungsrezeptor CD222 [12, 13] erfordert.

All diese strukturellen Formen des u-PAR besitzen eigene und unterschiedliche Konformationen, wodurch unterschiedliche Ligandenbindungsstellen exponiert werden. Eine Ligandenbindung wiederum kann zur erneuten Konformationsänderung des u-PAR führen, welche zuvor verborgene Epitope exponieren kann; ein Vorgang, der das Spektrum möglicher u-PAR-Interaktionen erweitert. Tatsächlich konnten unterschiedliche Konformationen des u-PAR mit verschiedenen Interaktionspartnern in Zusammenhang gebracht werden; als Beispiel gilt die Interaktion mit der FPR-Familie, welche die Trennung der Domäne 1 und Domäne 2 an Position Aminosäure (AS) 84 voraussetzt [14].

Weiters können u-PAR-Mutanten, welche u-PA binden, gezielt zu Interaktionen mit transmembranen Proteinen führen. Als Beispiel hierfür gelten Integrine sowie der EGFR [15]. Daher gilt die Spaltung des u-PAR als wichtiger physiologischer/pathologischer Mechanismus. Obwohl noch nicht vervollständigt, so gibt es bereits umfangreiche Kenntnisse über Interaktionspartner des u-PAR, das sog. »u-PAR-Interaktom«. Als wichtigste Interaktionspartner gelten hierbei Integrine, der »G-protein coupled receptor« (GPCR), die FPR-Familie und der EGFR. Durch diese Interaktionen beeinflusst u-PAR direkt die Zelladhäsion, Zellproliferation und die Zellmigration [3, 16, 17].

### 29.1.2 Matrix-u-PAR-Interaktionen: Vitronektin und Integrine

Der u-PAR interagiert mit der Somatomedin-B-(SMB-)Domäne [18–20] des Matrixproteins Vitronektin, eine Bindung, die durch u-PA beeinflusst wird [21]. Abgesehen von dieser direkten Interaktion mit einem Matrixprotein, kann u-PAR direkt mit Integrinadhäsionsmolekülen interagieren, wobei

insbesondere die Fibronektinrezeptoren Integrin $\alpha_3\beta_1$ und Integrin $\alpha_5\beta_1$ hervorzuheben sind. Für diese Interaktion scheint die Domäne 3 des u-PAR eine besondere Rolle zu spielen [22]. Weiterhin konnte eine u-PAR-Interaktion mit den Integrinen $\alpha_v\beta_5$ und $\alpha_v\beta_3$ [23] sowie mit dem Makrophagenantigen Mac-1 (CD11b/CD18) [24] beobachtet werden, während der lösliche u-PA-Rezeptor (su-PAR) mit den Integrinen $\alpha_4\beta_1$, $\alpha_6\beta_1$, $\alpha_9\beta_1$ und $\alpha_v\beta_3$ interagiert. Obwohl die u-PAR-Integrin-Interaktion hauptsächlich an ein und derselben Zelle (Cis-Form) stattfindet, wurde auch eine Trans-Interaktion beschrieben, wodurch es zu einer Zell-Zell-Interaktion kommt [25].

Die Interaktion von u-PAR mit Integrinen wurde intensiv erforscht. Die u-PAR-Bindungsstelle befindet sich am b-Propeller (»W4BC-loop«) der α3-Integrinsubdomäne, getrennt von der Laminin-5-Bindungsstelle. Die u-PAR-Integrin-Interaktion reguliert die $\alpha_5\beta_1$-mediierte Zellmigration auf Fibronektin [26, 27], die $\alpha_5\beta_1$-mediierte Signaltransduktion [22, 28, 29] und die Fibronektin-Matrix-Aggregation [39]. Die Strukturanalyse zeigte eine Konformationsänderung der $\alpha_5\beta_1$-Integrine, sobald u-PAR mit diesen interagiert, wodurch eine zusätzliche RGD-unabhängige Bindungsstelle für Fibronektin frei wird, die eine verstärkte Fibronektinbindung ermöglicht [31]. Interessanterweise adhärieren Zellen an das Fibronektinfragment III-9-11 unabhängig von u-PAR, jedoch abhängig von der RGD-Sequenz des Liganden, während nur u-PAR exprimierende Zellen an das Fibronektinfragment III-12-15, dafür jedoch unabhängig von RGD, binden.

Die Beobachtung, dass u-PAR die $\alpha_5\beta_1$-Integrine aktiviert und stabilisiert, wurde von Ossowski et al. an humanen epidermoiden Karzinomzelllinien beschrieben [82]. Die verstärkte Fibronektinadhäsion von aggressiven im Vergleich zu »schlafenden« Tumorzellen konnte dabei mit der Expression von u-PAR in direkten Zusammenhang gebracht werden. Infolgedessen zeigten sich eine verstärkte ERK-Phosphorylierung (ERK = »extracellular signal-related kinase«) sowie eine Fibronektinmatrixanhäufung, welche ebenfalls im Zusammenhang mit dem Grad der u-PAR-Expression standen – ein Vorgang, welcher durch Blockierung der u-PAR-Integrin-Interaktion durch ein Peptid (P25) gehemmt werden konnte [29, 32, 33].

### 29.1.3 Interaktionen von u-PAR mit den Signaltransduktionsrezeptoren EGFR und GPCR

Es wurden bis dato verschiedenste Interaktionen des u-PAR mit multimolekularen Komplexen beschrieben, wobei teilweise die räumlichen Interaktionen noch unklar sind. Eine gegenseitige Beeinflussung der biologischen Funktionen wurde für u-PAR mit EGFR und Integrinen, GPCR, Vertretern der »low density lipoprotein receptor«-(LDLR-)Familie und Matrixmetalloproteinasen beschrieben [34–37]. Die Interaktion des u-PAR mit der FPR-Familie (FPRL1 und FPR) benötigen das chemotaktische Epitop des u-PAR, welches sich zwischen Domäne 1 und 2 an Position 84-92 befindet [14]. Die Aktivität des FPRL1 wird daher auch durch die lösliche Domäne 2,3 des u-PAR beeinflusst [16, 28].

### 29.1.4 Interaktion von u-PAR mit Modulatoren

Funktionell wird u-PAR durch das Tetraspanin CD82/KAI1 (mit Tumorsuppressoraktivität) beeinflusst, welches auch die u-PAR-$\alpha_5\beta_1$-Interaktion beeinflusst [39]. Die Verfügbarkeit des u-PAR an der Zelloberfläche kann durch den »mannose 6-phosphate/insulin-like growth factor-II«-Rezeptor (M6P/IGF-IIR; CD222] beeinflusst werden, der über seine N-terminale Region direkt an u-PAR bindet. Das »high molecular weight kininogen« (HK) interagiert mit dem löslichen Rezeptor su-PAR an unterschiedlichen Bindungsseiten [41], wobei dies zu einer Beeinflussung der Urokinasebindung führt. Dabei sind die Domäne II,III des u-PAR [42] sowie die Domäne 5 (Kininostatin) des Kininogens [43] involviert, welches zur Blockierung der Zelladhäsion führt [44]. Zytokeratin-1 (CK-1) wird dabei als wesentlicher Bestandteil des multimolekularen Komplexes der HK-Bindung vermutet [45]. Die sog. Ganglioside interferieren mit der Integrin $\alpha_5\beta_1$-u-PAR- sowie der Integrin-EGFR-Interaktion, wobei die u-PAR-/integrinabhängigen Funktionen moduliert werden [37, 46].

### 29.1.5 Zellsignaltransduktion und u-PAR

Abb. 29.1 zeigt die wichtigsten Interaktionen des u-PAR-u-PA-PAI-1-Systems in der intrazellulären Signaltransduktion.

#### Signaltransduktion über Integrine

Die u-PAR-Integrin-Interaktion führt nicht nur zur Beeinflussung mechanischer Zellfunktionen, sondern beeinflusst auch die adhäsionsinduzierte Signaltransduktion. Wenn die u-PAR-Integrin-Interaktion mittels blockierender Peptide gehemmt wird, kommt es auch zur Hemmung der »Src family kinases«-(SFK-)-Integrin-β-Interaktion, wodurch integrinabhängige Zellfunktionen gehemmt werden. Dies kann einerseits durch die stabilisierende Wirkung des u-PAR auf den Caveolin-Integrin-Komplex erklärt werden, wobei man annimmt, dass SFK durch Caveolin-1 an Integrin-β-Subdomänen transportiert werden.

Eine Src-Integrin-Interaktion ist andererseits wiederum Grundvoraussetzung für eine adhäsionsinduzierte Si-

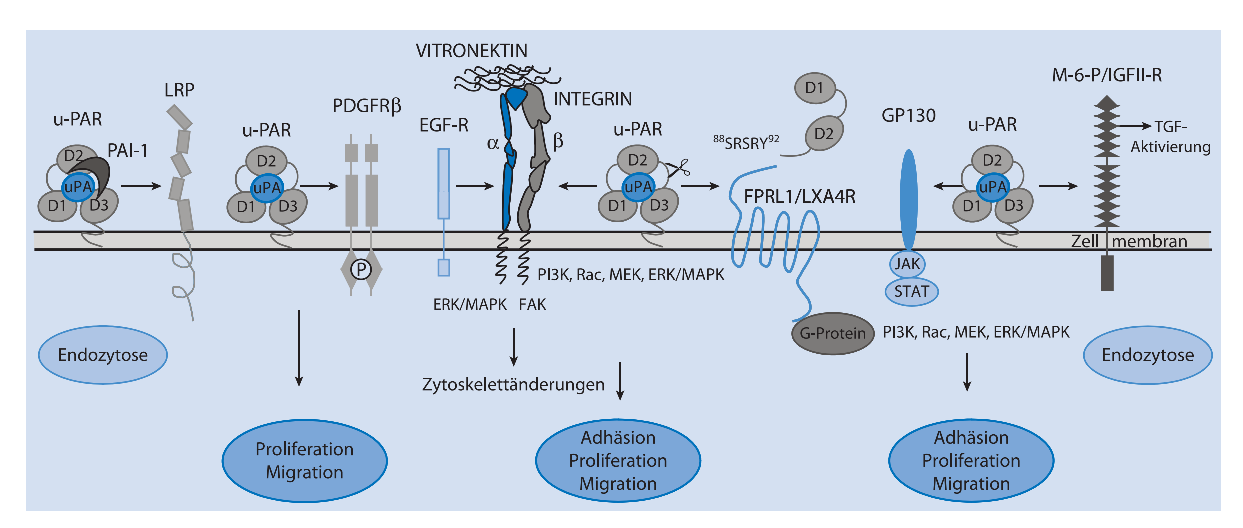



**Abb. 29.1.** Das uPAR-uPA-PAI-1-Interaktom. *D1–D3* Domäne 1–3 des Urokinaserezeptors; *EGF-R* »epidermal growth factor receptor«; *ERK* »extracellular signal-related kinase«; *FAK* »focal adhesion kinase«; *FPRL1* Homolog des fMLP-Rezeptors; *GP 130* Glykoprotein 130; *JAK* Janus-Kinase; *LRP* »low density lipoprotein receptor related protein«; *LXA4R* Lipoxin-A4-Rezeptor; *M-6-P/IGFII-R* »mannose-6-phosphat/insulin like growth factor II receptor«; *MAPK* mitogenaktivierte Proteinkinase; *MEK* MAPK/ERK-Kinase; *PAI-1* »plasminogen activator inhibitor-1«; *PDGFRβ* »platelet derived growth factor receptor«; *PI3K* Phosphatidylinositol-3-Kinase; *Rac* »ras-related C3 botulinum toxin substrate«; *STAT* »signal transducer and activator of transcription 1«; *u-PAR* Urokinaserezeptor

gnaltransduktion [57]. Eine andere Gruppe beschreibt einen Mechanismus, bei welchem die Überexpression des u-PAR den »Tumorschlaf« durch Induktion von FAK (»focal adhesion kinase«) und Src aufhebt. Bei diesem Mechanismus kommt es ferner zur verstärkten ERK-Phosphorylierung durch Integrin $\alpha_5\beta_1$, welches eine Grundvoraussetzung für das Tumorwachstum in vivo darstellt [33]. In Übereinstimmung damit führt eine Hemmung der u-PAR-Expression oder eine Blockierung von FAK zum Ruhezustand der humanen Karzinomzelllinie T-Hep3 [29].

Die Bindung von u-PA an ihren Rezeptor u-PAR führt zur hochaffinen u-PAR-u-PA-Interaktion mit $\alpha_3\beta_1$-Integrinen ($K_d$: <20 nmol/l). Dies führt zu einem verstärkten Zell-Spreading und zur FAK-Phosphorylierung der Zellen auf Fibrinogen in einem pertussistoxinabhängigen Verhältnis [58]. Auch die Fibronektinmatrixanhäufung wird durch einen u-PAR-abhängigen Mechanismus via SFK, EGFR und β1-Integrine beeinflusst [39].

## Signaltransduktion über GPCR

Der u-PAR vermittelt Signaltransduktion über GPCR. Dabei spielt ein Motiv, welches zwischen Domäne 1 und 2 lokalisiert ist (88Ser-Arg-Ser-Arg-Tyr92), eine entscheidende Rolle. Dieses Motiv wird durch u-PA-induzierte Spaltung der Domäne 1 von u-PAR exponiert, was zu einer Zytoskelettveränderung sowie einer Induktion der intrazellulären Signaltransduktion führt. Die Beteiligung von GPCR wurde durch die pertussistoxinsensitive Signaltransduktion, welche infolge exogener Zugabe löslicher Domäne 2,3 des u-PAR bei u-PAR$^{-/-}$-Zellen auftrat, erstmalig beschrieben [62]. Mindestens ein Vertreter der GPCR-Familie konnte bis dato identifiziert werden: FPRL1, ein Homolog des fMLP-Rezeptors (fMLP = N-Formylmethionylleucylphenylalanin), vermittelt chemotaktische Aktivität von u-PA bzw. der Domäne 2,3 des u-PAR. FPRL1-defiziente Zellen sind resistent gegenüber löslicher Domäne 2,3 sowie gegenüber der u-PA-induzierten Chemotaxis. In u-PAR$^{-/-}$-Zellen zeigte sich ein verstärktes Ansprechen der FPRL1-induzierten Signaltransduktion durch Zugabe löslicher Domäne 2,3 des u-PAR, wohingegen exogene u-PA keinen Effekt in diesen Zellen zeigte. Daraus lässt sich eine indirekte Wirkung der Urokinase durch ihren Rezeptor u-PAR ableiten [83].

## Signaltransduktion durch Vertreter der LDLR-Familie

Das sog. »low density lipoprotein receptor related protein« (LRP1) bindet multiple Liganden und Transporter, wobei diese durch den Rezeptor in das endosomale Kompartment internalisiert werden können. Intrazelluläre Adapterproteine vermitteln dabei intrazelluläre Signaltransduktion. Es konnte gezeigt werden, dass LRP1 in u-PAR-abhängiger Weise die Rac1-Aktivierung reguliert. Sowohl in LRP1-defizienten MEF (»mouse embryonic fibroblasts«) als auch in RAP-behandelten Zellen (RAP: Chaperon, welches die Ligandenbindung an LRP verhindert) konnte eine verstärkte Rac1-Aktivierung und Zellmigration beobachtet werden. In u-PAR-defizienten Zellen hatte RAP keinen Effekt auf Rac1-Aktivierung und Zellmigration. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass LRP1 die Aktivierung der intrazellulären Kinase ERK1/2 in MEF hemmt [64].

### Signaltransduktion über den JAK/STAT-Signaltransduktionsweg

Durch die Bindung von u-PA an ihren Rezeptor u-PAR werden in einigen Zelltypen intrazelluläre Signaltransduktionswege induziert: Es konnte durch Koimmunprezipitationstechniken die Assoziation von u-PAR mit Vertretern der SFK (p60fyn, p53/p59lyn, p56&p59hck, p59fgr) nachgewiesen werden [59]. Weiterhin konnte in einer renalen Epithelzelllinie gezeigt werden, dass Clustering von u-PA und u-PAR durch monoklonale Antikörper eine Assoziation von JAK1-Kinase mit u-PAR induziert. In der Folge kam es zu STAT1-Phosphorylierung (STAT1 = »signal transducer and activator of transcription 1«), Dimerisierung und nukleärer Translokation, was zur spezifischen Bindung an die DNA-Bindungsstellen GAS (»interferon-gamma activation site«) und ISRE (»interferon-stimulated response element«) führte. An diesem Mechanismus ursächlich beteiligt dürfte das Transmembranprotein gp130 sein, welches ebenfalls als Folge der u-PA-u-PAR-Interaktion mit u-PA kolokalisiert wird [66].

Ein ähnlicher Mechanismus konnte von Dummler et al. beschrieben werden, wobei durch u-PA-Bindung an ihren Rezeptor eine JAK/STAT-Signaltransduktionsaktivierung (JAK = Janus-Kinase) erfolgt, was in weiterer Folge zur Aktivierung der Migration vaskulärer glatter Muskelzellen führte [67–68]. Bei diesem Mechanismus schienen auch andere Kinasen wie auch »platelet derived growth factor receptor« (PDGFR) [69–71] involviert zu sein.

## 29.2 Plasminogenaktivierung bei Zellmigration, Angiogenese, Tumorwachstum und -metastasierung

### 29.2.1 Das u-PAR-u-PA-PAI-1-System in der extra-/perizellulären Proteolyse

Urokinase (u-PA) ist ein Plasminogenaktivator. Trotzdem und im Gegensatz zum »tissue-type plasminogen activator« (t-PA) ist weder u-PA noch ihr Rezeptor u-PAR ausschlaggebend an der Regulation der intravaskulären Fibrinolyse beteiligt, wie dies in u-PA- und u-PAR-defizienten Mausmodellen gezeigt werden konnte [3, 47]. Scu-PA ist das inaktive Proenzym von u-PA, welches – im Sinne einer positiven Rückkoppelung – durch Plasmin aktiviert wird, welches selbst durch u-PA entsteht,. Neben Plasmin können noch andere Proteasen, wie die Matrixmetalloproteinasen (MMP) [48], Matriptase [49], Hepsin [50] und Serase 1b [51], u-PA aktivieren. Die Generierung von aktiver u-PA aus scu-PA erfolgt an der Zelloberfläche, sofern scu-PA an ihren Rezeptor u-PAR gebunden ist. PAI-1 kann dabei modulierend in diesen Prozess eingreifen [52–54].

Aktive u-PA startet dann unterschiedliche funktionelle Kaskaden, welche Zelladhäsion, Zellmigration und Zellüberleben maßgebend mitbestimmen. Für die perizelluläre Proteolyse der Matrix muss zunächst das inaktive Zymogen Plasminogen in Plasmin überführt werden. Plasminogen selbst ist spärlich in der extrazellulären Flüssigkeit zu finden, jedoch reichert es sich am zellulären Rezeptor Annexin II an. Plasmin steht am oberen Ende der Kaskade der MMP-Aktivierung, welche ebenfalls zur Verdauung der extrazellulären Matrix als Grundlage einer effektiven Zellinvasion beiträgt [52, 55]. Wenn Plasminogen an seinen zellulären Rezeptor M6P/IGF-IIR (CD222) bindet, der einerseits mit u-PAR selbst, jedoch andererseits auch mit dem latenten TGF-β-Komplex interagiert, so kommt es zur Freisetzung von aktivem TGF-β [56]. Aktiver TGF-β wiederum bewirkt eine verstärkte Synthese von PAI-1, welcher durch einen negativen Rückkopplungsmechanismus die TGF-β-Aktivierung hemmt. Ein weiteres Substrat für u-PA stellt ihr eigener Rezeptor u-PAR dar. Der Rezeptor wird durch u-PA zwischen Domäne 1 und 2 gespalten, was eine verstärkte Zellmigration durch eine multimolekulare Komplexformation zwischen u-PAR, Integrinen und den GPCR FPRL1 und FPR bewirkt [9, 14].

### 29.2.2 Das u-PAR-u-PA-PAI-1-System und seine Rolle im Gefäßsystem

#### Angiogenese

Die Blutgefäße stellen das größte Netzwerk im menschlichen Körper dar, wobei dieses die Sauerstoff- und Nährstoffversorgung im gesamten Organismus gewährleistet. Im Gegensatz dazu trägt die Dysregulation der Blutgefäßgenerierung zu einer Vielzahl unterschiedlicher Erkrankungen malignen, infektiösen, ischämischen oder entzündlichen Ursprungs bei. Blutgefäße können auf unterschiedliche Weise entstehen: Die Vaskulogenese bezeichnet die Entstehung neuer Blutgefäße durch Endothelvorläuferzellen, während die Angiogenese das Aussprossen neuer Blutgefäße aus präexistierenden Blutgefäßen darstellt. [72–78].

Die Tumorangiogenese wurde zum ersten Mal vor mehr als 100 Jahren beschrieben [79]. Judah Folkman beschrieb 1971 erstmalig, dass Tumorwachstum und Metastasierungsfähigkeit angiogeneseabhängige Mechanismen sind. Die Hemmung der Tumorangiogenese stellt mittlerweile eine Therapieoption in der Onkologie dar [80]. Zwischenzeitlich gilt es als weitgehend bekannt, dass präkanzeröses Gewebe zuerst die Fähigkeit zur Gefäßneubildung erlangen muss um endgültig maligne zu entarten. Dabei ändert sich das Gleichgewicht zwischen pro- und antiangiogenetischen Molekülen in Richtung Angiogenese. Tatsächlich produzieren Tumoren eine Reihe proangiogenetischer Wachstumsfaktoren. Den Wichtigsten dabei repräsentiert der »vascular

endothelial growth factor« (VEGF) [76]. Auch unter physiologischen Bedingungen kann VEGF überexprimiert werden, z. B. durch Hypoxie, welche ebenfalls einen Stimulus für die Gefäßneubildung darstellt.

VEGF verstärkt alle Schritte der Angiogenese: die Gefäßpermeabilität, also die Exsudation von Plasmaproteinen als Grundlage einer provisorischen Matrix invadierender Endothelzellen, die Endothelzellproliferation, die Endothelzellmigration sowie die kapillarähnliche Aneinanderreihung von Endothelzellen (»capillary-like tube formation«). Als Grundvorausetzung für eine Endothelzellinvasion müssen zuerst die Zell-Zell-Kontakte gelöst werden, bevor sich der proteolytische Apparat in der polarisierten Zelle an das führende Ende fokussiert. Dies stellt wiederum eine Grundvoraussetzung für die Matrixdegradation dar, wobei Proteasen des fibrinolytischen Systems, der Matrixmetalloproteinasen, Chymasen und Heparanasen als wichtig erachtet werden. So konnte z. B. gezeigt werden, dass die funktionelle Hemmung des u-PAR zu einer signifikanten Hemmung der Endothelzellinvasion führt [81–82] und in Abwesenheit des PAI-1 die Krebszelle ihre Invasions- und Metastasierungsfähigkeit verliert [83]. Die Hemmung der MMP2-Bindung an das Integrin $\alpha_v\beta_3$ durch das nichtkatalytisch aktive MMP2-Fragment PEX hemmt die Tumorangiogenese [84]. Paradoxerweise korreliert die Expression des PAI-1 sowie auch des »tissue inhibitor of matrixmetalloproteinase 1« (TIMP-1) mit einer schlechten Prognose bei Tumorpatienten, wobei dies am ehesten auf die Regulation des proteolytischen Systems oder auch auf nicht näher definierte Mechanismen zurückzuführen ist.

Sobald die umliegenden Matrixproteine degradiert werden, können verborgene Bindungsstellen für Adhäsionsmoleküle exponiert werden. Migrierende Endothelzellen formieren durch Integrinadhäsion laufend am führenden Ende sog. »focal contacts«. Die Zell-Matrix-Interaktion besteht so lange, bis die Integrine das hintere Ende der migrierenden Endothelzelle erreicht haben, wo Integrine die Ligandenbindung lösen müssen, um eine Zellfortbewegung zu ermöglichen [85, 86]. Die Endozytose und Umverteilung der Integrine in der migrierenden Endothelzelle stellt die favorisierte Hypothese dieses Mechanismus dar [87]. Dennoch ist nicht zur Gänze geklärt, wie Integrine internalisiert werden, obwohl die Beteiligung clathrinhaltiger Vesikel beschrieben wurde [88]. Obwohl das NPXY-Internalisationsmotiv, welches in clathrinabhängigen Internalisierungsprozessen von Rezeptoren exprimiert wird, in den meisten zytoplasmatischen Domänen der β-Integrine zu finden ist, konnten Punktmutationen innerhalb dieses Motivs die Internalisierung der Integrine nicht verhindern [90], sodass ein alternativer Mechanismus als wahrscheinlich gilt.

Wenn Endothelzellen durch VEGF aktiviert werden, kommt es zur Expression verschiedener proteolytischer Enzyme. Obwohl die meisten dieser Enzyme in ihrer inaktiven, latenten Form exprimiert werden, konnten wir kürzlich einen Mechanismus beschreiben, bei dem VEGF über VEGFR-2 zu einer raschen Aktivierung der über u-PAR an die Zelloberfläche gebundenen scu-PA führt [91]. An diesem Mechanismus ist ursächlich die Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3-Kinase) beteiligt, welche zu einer Änderung der Integrin-Liganden-Affinität führt. Als Konsequenz kommt es zu einer Pro-MMP2 sowie zu einer scu-PA-Aktivierung.

In weiterer Folge bewirkt die durch VEGF induzierte scu-PA-Aktivierung eine lokale Fibrinolyse, was einen der initialen Schritte in der Matrixdegradierung darstellen dürfte. Weiterhin kommt es zur Komplexierung der aktiven u-PA mit ihrem Inhibitor PAI-1, welcher – sofern an den u-PAR gebunden – zu einer Internalisierung und Degradation des u-PA-PAI-1-Komplexes führt. Die Internalisierung wird durch einen Vertreter der LDLR-Familie mediiert [92]. Internalisierter u-PAR jedoch rezirkuliert vom Endosom zurück an die Zelloberfläche [93]. Wir konnten unlängst zeigen, dass in VEGF-aktivierten Endothelzellen nicht nur scu-PA aktiviert wird, was zur extrazellulären Matrixdegradation führt, sondern es als weitere Konsequenz zu einer koordinierten Internalisierung des u-PAR über LDLR-ähnliche Moleküle kommt. Durch die Verwendung PAI-1$^{-/-}$-Zellen konnten wir ferner zeigen, dass die Bildung des u-PAR-u-PA-PAI-1-Komplexes eine Grundvoraussetzung für die u-PAR-Internalisierung darstellt. Der an die Oberfläche rezirkulierte u-PAR findet sich sodann fokussiert an den neu gebildeten »focal contacts« am führenden Ende der migrierenden Endothelzelle [94].

Die Internalisierung und gezielte Umverteilung des u-PAR zum führenden Ende stellt einen essenziellen Mechanismus in der VEGF-induzierten Endothelzellmigration dar, da die Spaltung des GPI-Ankers des u-PAR die Fähigkeit der Endothelzelle zur Migration signifikant vermindert. Im Gegensatz dazu zeigte eine Stimulation der Endothelzellen durch den »placenta-like growth factor« (PlGF), welcher nicht zur scu-PA-Aktivierung an der Endothelzelloberfläche führt, keine Internalisierung und Rezirkulation des u-PAR, obwohl auch dieser Wachstumsfaktor zu einer gesteigerten Endothelzellmigration führt. Diese Migration ist daher von u-PAR unabhängig [94] und dürfte anders reguliert sein.

Wir schließen daraus, dass für die Endothelzellmigration die Generierung eines proteolytischen Systems zur extrazellulären Matrixdegradation notwendig ist. Die Matrixdegradation setzt sodann matrixgebundenen PAI-1 frei, welcher in weiterer Folge zur Komplexformation mit u-PA-u-PAR und der daraus resultierenden u-PAR-Internalisierung notwendig ist. Obwohl auch andere Mechanismen an der Generierung einer verstärkten Proteolyse beteiligt sein

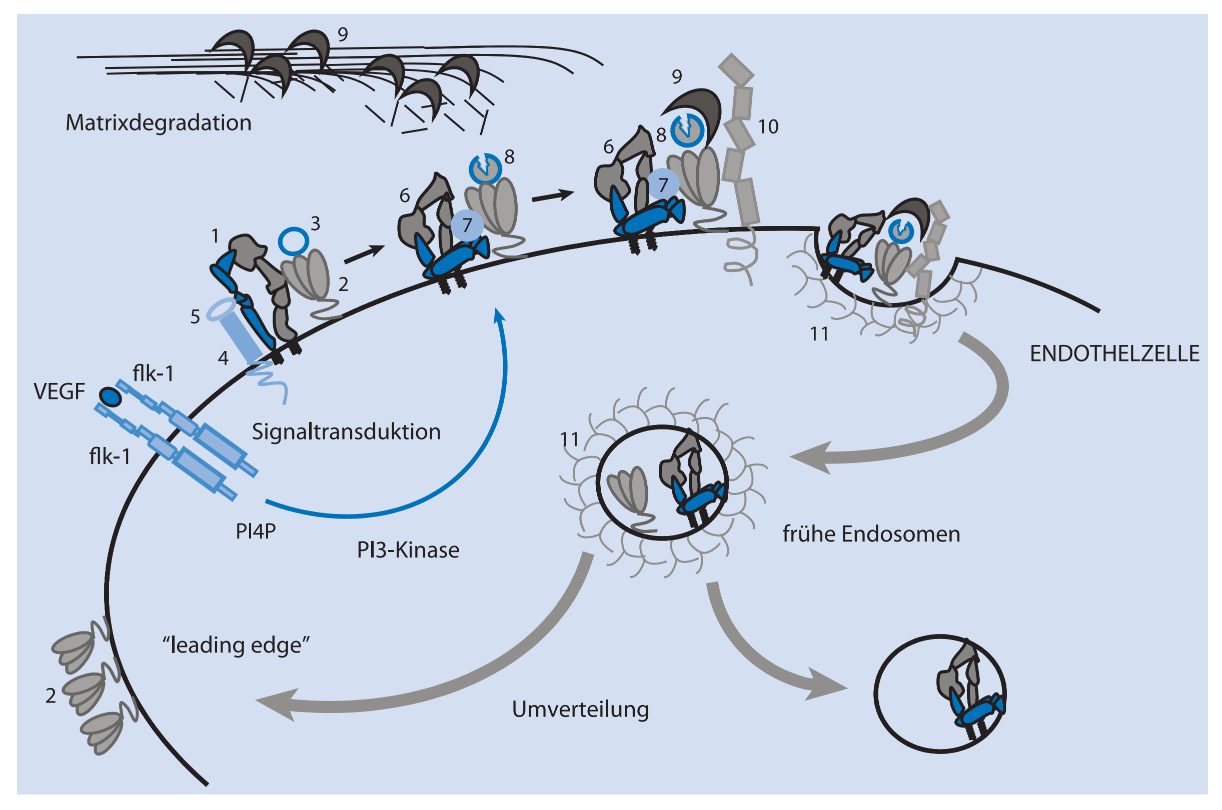



**Abb. 29.2.** Beitrag des u-PAR-u-PA-PAI-1 Systems zur VEGF induzierten Angiogenese. *1* Integrin, aktiviert; *2* u-PAR; *3* pro-u-PA; *4* MT1-MMP (»membrane type 1-matrix metalloprotease«); *5* pro-MMP2 (Pro-Matrix-Metalloprotease 2); *6* Integrin, nicht aktiviert; *7* MMP-2; *8* u-PA; *9* PAI-1; *10* »low density lipoprotein receptor-like molecule«; *11* Clatrin. *VEGF* »vascular endothelial growth factor«; *flk-1* VEGF-Rezeptor 2; *PI3-Kinase* Phosphatidylinositol-3-Kinase; *PI3P* Phosphatidylinositol-3-phosphat

dürften, so kann doch in der VEGF-induzierten Endothelzellmigration die Anwesenheit des u-PAR als notwendig angesehen werden. Diese Beobachtung ist konsistent mit Daten von Bajou et al., welche in einer PAI-$1^{-/-}$-Maus die Notwendigkeit von PAI-1 in der Tumorangiogenese zeigen [83, 95–97].

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass als Antwort auf eine Wachtumsfaktorstimulation Endothelzellen eine erhöhte lokale proteolytische Aktivität generieren. Zusätzlich ist die u-PA-u-PAR-PAI-1-Komplexformation und -internalisierung entscheidend für die initiale migratorische Antwort auf Wachstumsfaktoren (Abb. 29.2). Neben dem möglichen Effekt des Plasminogenspaltproduktes Angiostatin [98–101] stellt das System des u-PAR-u-PA-PAI-1 einen wichtigen Beitrag zur Angiogenese in der Gefäßbiologie dar.

## Makrovaskuläre Erkrankungen

Im Gegensatz zur Angiogenese, wo das u-PAR-u-PA-PAI-1-System eine entscheidene Rolle spielt, dürfte bei thombotischen makrovaskulären Erkrankungen eher das t-PA-PAI-1-System für die Fibrinolyse entscheidend sein. Dies konnte mit Ausnahme der Aneurysmen [102] und der Neointimaformation [103] durch Knockout- und transgene Mausmodelle sowie durch eine große Anzahl von Patientenstudien, welche t-PA und PAI-1-Plasmaspiegel mit dem Grad der Erkrankung verglichen [107–116], gezeigt werden. An diesem System scheint in erster Linie PAI-1 ursächlich beteiligt zu sein, weil PAI-1 die Neointimaformation unter unterschiedlichen Bedingungen steigert [117–119]. Dies wird am ehesten auf die PAI-1-induzierte Endothelzellproliferation [120] und den Effekt von PAI-1 auf die Endothelzellmigration [121], aber auch auf die indirekte prothrombotische Beeinflussung zurückgeführt. Dies schliesst jedoch nicht eine u-PA-induzierte Aktivierung des STAT-Pathways in glatten Muskelzellen, welche die Zellproliferation hemmt [122], als ursächlichen Mechansimus für die PAI-1-Effekte aus. Während die Korrelation erhöhter PAI-1-Spiegel mit Thrombusentstehung als verständlich gilt und durch In-vivo-Studien und Patientendaten untermauert wurde, so kann ein direkter Effekt des u-PAR-u-PA-PAI-1-Systems sowie auch des t-PA-PAI-1-Systems auf makrovaskuläre Erkrankungen weniger Unterstützung finden.

### 29.2.3 Das u-PAR-u-PA-PAI-1-System und seine Rolle bei Tumorwachstum und Metastasierung

Neben der Beteiligung des u-PAR-u-PA-PAI-1-Systems an der Tumorangiogenese spielt dieses System auch im Tumorzellverhalten eine wichtige, wenn auch eine vom hämostatischen System unabhängige Rolle. Dies wird von einer Reihe klinischer sowie experimenteller Daten belegt, die eine Rolle der u-PA-u-PAR-Interaktion sowohl in der Tumorzellmigration als auch in der Tumorzellinvasion zeigen, was auf Beeinflussung der Proteolyse sowie Zelladhäsion an die extrazelluläre Matrix zurückzuführen ist. Zusätzlich vermittelt u-PAR durch Interaktionspartner die intrazelluläre Signaltransduktion; dabei werden Tumor- und Endothelzellproliferation sowie -migration beeinflusst, was wiederum die Formation von Metastasen fördert.

Klinische Studien zeigen deutlich, dass der Grad der u-PAR-Expression mit einer reduzierten Gesamtüberlebenszeit von Patienten einhergeht, die an einem Kolorektalkarzinom [123] leiden. Bei Urothelkarzinompatienten stellt u-PAR einen unabghängigen Prognosefaktor dar [124]. Weiterhin korreliert die u-PAR-Expression mit dem Grad und dem Stadium vieler verschiedener Tumorarten, wie z. B. dem Nierenzellkarzinom [125], dem Astrozytom und Glioblastom [126], oder aber sie korreliert mit der Fähigkeit zur Metastasierung, wie beim Plattenepithelkarzinom der Zunge [127] oder beim Gallengangskarzinom [128]. Verschiedene experimentelle Studien konnten dabei zeigen, dass eine Herabregulation der u-PAR-Expression – entweder durch Anti-DNAzyme oder siRNA (»short interfering RNA«) oder durch funktionell blockierende anti-u-PAR-Antikörper – zu einer signifikanten Reduktion des Tumorwachstums, der Tumorinvasion sowie der Metastasierungsfähigkeit unterschiedlichster Tumorentitäten führte [129–137].

Andererseits konnte der sog. Tumorschlaf durch eine Überexpression des u-PAR beendet werden, wobei es dabei über Integrin $\alpha_5\beta_1$ zu einer FAK- und src-Aktivierung und in weiterer Folge zu einer ERK-Phosphorylierung kommt. Umgekehrt konnte eine Hemmung der u-PAR-Expression in der humanen Karzinomzelllinie T-Hep3 einen Tumorschlaf induzieren [138, 139]. In einer anderen Studie konnte die Tatsache einer erhöhten u-PAR-Expression durch Tumorzellen genutzt werden, um ein durch spezifischen u-PA aktivierbares Anthraxtoxin als gezieltes Therapeutikum zu nutzen [140]. Obwohl sich all diese Studien in einem frühen präklinischen Stadium befinden, so deuten die Daten doch darauf hin, dass u-PAR ein vielversprechendes und potenziell therapeutisch nutzbares Ziel der Onkologieforschung darstellt.

## Literatur


[1] Stephens RW et al. (1999) Plasma urokinase receptor levels in patients with colorectal cancer: relationship to prognosis. J Natl Cancer Inst 91: 869–874
[2] Cunningham O et al. (2003) Dimerization controls the lipid raft partitioning of uPAR/CD87 and regulates its biological functions. EMBO J 22: 5994–6003
[3] Blasi F, Carmeliet P (2002) uPAR: a versatile signalling orchestrator. Nat Rev Mol Cell Biol 3: 932–943
[4] Liang OD et al. (2001) Ligand binding regions in the receptor for urokinase-type plasminogen activator. J Biol Chem 276: 28946–28953
[5] Barinka C et al. (2006) Structural Basis of Interaction between Urokinase-type Plasminogen Activator and its Receptor. J Mol Biol 363: 482–495
[6] Huai Q et al. (2006) Structure of human urokinase plasminogen activator in complex with its receptor. Science 311: 656–659
[7] Huang M et al. (2005) Crystallization of soluble urokinase receptor (suPAR) in complex with urokinase aminoterminal fragment (1–143). Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 61: 697–700
[8] Hoyer-Hansen G et al. (2001) Urokinase-catalysed cleavage of the urokinase receptor requires an intact glycolipid anchor. Biochem J 358: 673–679
[9] Resnati M et al. (1996) Proteolytic cleavage of the urokinase receptor substitutes for the agonist-induced chemotactic effect. EMBO J 15: 1572–1582
[10] Montuori N et al. (2002) The cleavage of the urokinase receptor regulates its multiple functions. J Biol Chem 277: 46932–46939
[11] Nykjaer A et al. (1992) Purified alpha 2-macroglobulin receptor/LDL receptor related protein binds urokinase - plasminogen activator inhibitor type-1 complex. Evidence that the alpha 2-macroglobulin receptor mediates cellular degradation of urokinase receptorbound complexes. J Biol Chem 267: 14543–14546
[12] Nykjaer A et al. (1998) Mannose 6-phosphate/insulin-like growth factor-II receptor targets the urokinase receptor to lysosomes via a novel binding interaction. J Cell Biol 141: 815–828
[13] Godar S et al. (1999) M6P/IGFII-receptor complexes urokinase receptor and plasminogen for activation of transforming growth factor-beta1. Eur J Immunol 29: 1004–1013
[14] Resnati M et al. (2002) The fibrinolytic receptor for urokinase activates the G protein-coupled chemotactic receptor FPRL1/LXA4R. Proc Natl Acad Sci USA 99: 1359–1364
[15] Mazzieri R et al. (2006) An uncleavable uPAR mutant allows dissection of signaling pathways in uPA-dependent cell migration. Mol Biol Cell 17: 367–378
[16] Mondino A, Blasi F (2004) uPA and uPAR in fibrinolysis, immunity and pathology. Trends Immunol 25: 450–455
[17] Koshelnick Y et al. (1999) Mechanisms of signaling through urokinase receptor and the cellular response. Thromb Haemost 82: 305–311
[18] Hoyer HG et al. (1997) The intact urokinase receptor is required for efficient vitronectin binding: receptor cleavage prevents ligand interaction. FEBS Lett 420: 79–85
[19] Sidenius N, Blasi F (2000) Domain 1 of the urokinase receptor (uPAR) is required for uPAR-mediated cell binding to vitronectin. FEBS Lett 470: 40–46
[20] WeiY et al. (1994) Identification of the urokinase receptor as an adhesion receptor for vitronectin. J Biol Chem 269: 32380–32388
[21] Sidenius N et al. (2002) Urokinase regulates vitronectin binding by controlling urokinase receptor oligomerization. J Biol Chem 277: 27982–27990

[22] Chaurasia P et al. (2006) A region in urokinase plasminogen receptor domain III controlling a functional association with alpha5beta1 integrin and tumor growth. J Biol Chem 281: 14852–14863
[23] Carriero MV et al. (1999) Urokinase receptor interacts with alphavbeta5 vitronectin receptor, promoting urokinasedependent cell migration in breast cancer. Cancer Res 59: 5307–5314
[24] Simon DI et al. (1996) Mac-1 (CD11b/CD18) and the urokinase receptor (CD87) form a functional unit on monocytic cells. Blood 88: 3185–3194
[25] Tarui T et al. (2001) Urokinase-type plasminogen activator receptor (CD87) is a ligand for integrins and mediates cell-cell interaction. J Biol Chem 276: 3983–3990
[26] Yebra M et al. (1999) Urokinase-type plasminogen activator binding to its receptor stimulates tumor cell migration by enhancing integrin-mediated signal transduction. Exp Cell Res 250: 231–240
[27] Yebra M et al. (1996) Requirement of receptor-bound urokinase-type plasminogen activator for integrin alphavbeta5- directed cell migration. J Biol Chem 271: 29393–29399
[28] Tarui T et al. (2003) Critical role of integrin alpha 5 beta 1 in urokinase (uPA)/urokinase receptor (uPAR, CD87) signaling. J Biol Chem 278: 29863–29872
[29] Aguirre-Ghiso JA et al. (2003) ERK(MAPK) activity as a determinant of tumor growth and dormancy; regulation by p38(SAPK). Cancer Res 63: 1684–1695
[30] Monaghan-Benson E et al. (2006) Urokinase-type plasminogen activator receptor regulates a novel pathway of fibronectin matrix assembly requiring Src-dependent transactivation of epidermal growth factor receptor. J Biol Chem 281: 9450–9459
[31] Wei Y et al. (2005) Regulation of alpha5beta1 integrin conformation and function by urokinase receptor binding. J Cell Biol 168: 501–511
[32] Aguirre Ghiso JA et al. (1999) Tumor dormancy induced by downregulation of urokinase receptor in human carcinoma involves integrin and MAPK signaling. J Cell Biol 147: 89–104
[33] Aguirre-Ghiso JA et al. (2001) Urokinase receptor and fibronectin regulate the ERK(MAPK) to p38(MAPK) activity ratios that determine carcinoma cell proliferation or dormancy in vivo. Mol Biol Cell 12: 863–879
[34] Guerrero J et al. (2004) EGF receptor transactivation by urokinase receptor stimulus through a mechanism involving Src and matrix metalloproteinases. Exp Cell Res 292: 201–208
[35] Liu D et al. (2002) EGFR is a transducer of the urokinase receptor initiated signal that is required for in vivo growth of a human carcinoma. Cancer Cell 1: 445–457
[36] Tsatas D et al. (2002) EGF receptor modifies cellular responses to hyaluronan in glioblastoma cell lines. J Clin Neurosci 9: 282–288
[37] Wang XQ et al. (2005) Gangliosides inhibit urokinasetype plasminogen activator (uPA)-dependent squamous carcinoma cell migration by preventing uPA receptor/ alphabeta integrin/epidermal growth factor receptor interactions. J Invest Dermatol 124: 839–848
[38] Furlan F et al. (2004) The soluble D2D3(88–274) fragment of the urokinase receptor inhibits monocyte chemotaxis and integrin-dependent cell adhesion. J Cell Sci 117: 2909–2916
[39] Bass R et al. (2005) Regulation of urokinase receptor proteolytic function by the tetraspanin CD82. J Biol Chem 280: 14811–14818
[40] Leksa V et al. (2002) The N-terminus of mannose 6-phosphate/Insulin-like growth factor 2 receptor in regulationof fibrinolysis and cell migration. J Biol Chem 277: 40575–40582
[41] Mahdi F et al. (2004) Mapping the interaction between high molecular mass kininogen and the urokinase plasminogen activator receptor. J Biol Chem 279: 16621–16628
[42] Colman RW et al. (1997) Binding of high molecular weight kininogen to human endothelial cells is mediated via a site within domains 2 and 3 of the urokinase receptor. J Clin Invest 100: 1481–1487
[43] Colman RW et al. (2000) Domain 5 of high molecular weight kininogen (kininostatin) down-regulates endothelial cell proliferation and migration and inhibits angiogenesis. Blood 95: 543–550
[44] Chavakis T et al. (2000) Different mechanisms define the antiadhesive function of high molecular weight kininogen in integrin- and urokinase receptor-dependent interactions. Blood 96: 514–522
[45] Mahdi F et al. (2001) Expression and colocalization of cytokeratin1 and urokinase plasminogen activator receptor on endothelial cells. Blood 97: 2342–2350
[46] Wang XQ et al. (2006) Ganglioside GM3 promotes carcinoma cell proliferation via urokinase plasminogen activator- induced extracellular signal-regulated kinase-independent p70S6 kinase signaling. J Invest Dermatol 126: 2687–2696
[47] Carmeliet P et al. (1994) Physiological consequences of loss of plasminogen activator gene function in mice.Nature 368: 419–424
[48] Prager GW et al. (2003) Vascular endothelial growth factor (VEGF) induces rapid pro-urokinase (pro-uPA) activation on the surface of endothelial cells. Blood 103: 955–962
[49] Kilpatrick LM et al. (2006) Initiation of plasminogen activation on the surface of monocytes expressing the type II transmembrane serine protease matriptase. Blood 108: 2616–2623
[50] Moran P et al. (2006) Pro-urokinase-type plasminogen activator is a substrate for hepsin. J Biol Chem 281: 30439–30446
[51] OkumuraY et al. (2006) Serase-1B, a new splice variant of polyserase-1/TMPRSS9, activates urokinase-type plasminogen activator and the proteolytic activation is negatively regulated by glycosaminoglycans. Biochem J 400: 551–561
[52] Conese M, Blasi F (1995) Urokinase/urokinase receptor system: internalization/degradation of urokinase-serpin complexes: mechanism and regulation. Biol Chem Hoppe Seyler 376: 143–155
[53] Dano K et al. (2005) Plasminogen activation and cancer. Thromb Haemost 93: 676–681
[54] Mazar AP (2001) The urokinase plasminogen activator receptor (uPAR) as a target for the diagnosis and therapy of cancer. Anticancer Drugs 12: 387–400
[55] Dano K et al. (1999) Cancer invasion and tissue remodeling – cooperation of protease systems and cell types. APMIS 107: 120–127
[56] Leksa V et al. (2005) TGF-beta-induced apoptosis in endothelial cells mediated by M6P/IGFII-R and miniplasminogen. J Cell Sci 118: 4577–4586
[57] Wei Y et al. (1999) A role for caveolin and the urokinase receptor in integrin-mediated adhesion and signaling. J Cell Biol 144: 1285–1294
[58] Wei Y et al. (2001) Urokinase receptors promote beta1 integrin function through interactions with integrin alpha3beta1. Mol Biol Cell 12: 2975–2986
[59] Fazioli F et al. (1997) A urokinase-sensitive region of the human urokinase receptor is responsible for its chemotactic activity. EMBO J 16: 7279–7286
[60] Degryse B et al. (1999) Src-dependence and pertussistoxin sensitivity of urokinase receptor-dependent chemotaxis and cytoskeleton reorganization in rat smooth muscle cells. Blood 94: 649–662

[61] Nguyen DH et al. (2000= Urokinase-type plasminogen activator stimulates the Ras/Extracellular signal-regulated kinase (ERK) signaling pathway and MCF-7 cell migration by a mechanism that requires focal adhesion kinase, Src, and Shc. Rapid dissociation of GRB2/Sps-Shc complex is associated with the transient phosphorylation of ERK in urokinase-treated cells. J Biol Chem 275: 19382–19388
[62] Fazioli F et al. (1997) A urokinase-sensitive region of the human urokinase receptor is responsible for its chemotactic activity. EMBO J 16: 7279–7286
[63] Resnati M et al. (2002) The fibrinolytic receptor for urokinase activates the G protein-coupled chemotactic receptor FPRL1/LXA4R. Proc Natl Acad Sci USA 99: 1359–1364
[64] Ma Z et al. (2002) Regulation of Rac1 activation by the low density lipoprotein receptor related protein. J Cell Biol 159: 1061–1070
[65] Bohuslav J et al. (1995) Urokinase plasminogen activator receptor, beta 2-integrins, and Src-kinases within a single receptor complex of human monocytes. J Exp Med 181: 1381–1390
[66] Koshelnick Y et al. (1997) Urokinase receptor is associated with the components of the JAK1/STAT1 signaling pathway and leads to activation of this pathway upon receptor clustering in the human kidney epithelial tumor cell line TCL-598. J Biol Chem 272: 28563–28567
[67] Dumler I et al. (1998) The Jak/Stat pathway and urokinase receptor signaling in human aortic vascular smooth muscle cells. J Biol Chem 273: 315–321
[68] Dumler I et al. (1999) Urokinase induces activation and formation of Stat4 and Stat1-Stat2 complexes in human vascular smooth muscle cells. J Biol Chem 274: 24059–24065
[69] Kiian I et al. (2003) Urokinase-induced migration of human vascular smooth muscle cells requires coupling of the small GTPases RhoA and Rac1 to the Tyk2/PI3-K signalling pathway. Thromb Haemost 89: 904–914
[70] Kusch A et al. (2000= Urokinase stimulates human vascular smooth muscle cell migration via a phosphatidylinositol 3-kinase-Tyk2 interaction. J Biol Chem 275: 39466–39473
[71] Kiyan J et al. (2005) Urokinase-induced signaling in human vascular smooth muscle cells is mediated by PDGFR-beta. EMBO J 24: 1787–1797
[72] Carmeliet P (2000) Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. Nat Med 6: 389–395
[73] Carmeliet P, Jain RK (2000) Angiogenesis in cancer and other diseases. Nature 407: 249–257
[74] Carmeliet P (2003) Angiogenesis in health and disease. Nat Med 9: 653–660
[75] Carmeliet P (2003) Blood vessels and nerves: common signals, pathways and diseases. Nat Rev Genet 4: 710–720
[76] Carmeliet P (2005) VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer. Oncology 69(Suppl.3): 4–10
[77] Carmeliet P et al. (1997) Insights in vessel development and vascular disorders using targeted inactivation and transfer of vascular endothelial growth factor, the tissue factor receptor, and the plasminogen system. Ann NY Acad Sci 811: 191–206
[78] Carmeliet P (2005) Angiogenesis in life, disease and medicine. Nature 438: 932–936
[79] Goldman E (1907) The growth of malignant disease in man and the lower animals with special reference to the vascular system. Lancet 2: 1236–1240
[80] Folkman J (1971) Tumor angiogenesis: therapeutic implications. N Engl J Med 285: 1182–1186
[81] Min HY et al. (1996) Urokinase receptor antagonists inhibit angiogenesis and primary tumor growth in syngeneic mice. Cancer Res 56: 2428–2433
[82] Ossowski L (1996) Effect of antisense inhibition of Urokinase receptor on malignancy. Curr Top Microbiol Immunol 213: 101–112
[83] Bajou K et al. (1998) Absence of host plasminogen activator inhibitor 1 prevents cancer invasion and vascularization. Nat Med 4: 923–928
[84] Brooks PC et al. (1998) Disruption of angiogenesis by PEX, a noncatalytic metalloproteinase fragment with integrin binding activity. Cell 92: 391–400
[85] Felsenfeld DP et al. (1996) Ligand binding regulates the directed movement of beta1 integrins on fibroblasts. Nature 383: 438–440
[86] Lauffenburger DA, Horwitz AF (1996) Cell migration: a physically integrated molecular process. Cell 84: 359–369
[87] Lawson MA, Maxfield FR (1995) $Ca^{(2+)}$- and calcineurin- dependent recycling of an integrin to the front of migrating neutrophils. Nature 377: 75–79
[88] Zoellner H et al. (1999) Inhibition of microvascular endothelial apoptosis in tissue explants by serum albumin. Microvasc Res 57: 162–173
[89] Li Y et al. (2000) The YXXL motif, but not the two NPXY motifs, serves as the dominant endocytosis signal for low density lipoprotein receptor related protein. J Biol Chem 275: 17187–17194
[90] Fabbri M et al. (1999) A tyrosine-based sorting signal in the beta2 integrin cytoplasmic domain mediates its recyclingto the plasma membrane and is required for ligand- supported migration. EMBO J 18: 4915–4925
[91] Prager GW et al. (2004) Vascular endothelial growth factor (VEGF) induces rapid prourokinase (pro-uPA) activation on the surface of endothelial cells. Blood 103: 955–962
[92] Herz J et al. (1992) LDL receptor related protein internalizes and degrades uPA-PAI-1 complexes and is essential for embryo implantation. Cell 71: 411–421
[93] Nykjaer A et al. (1997) Recycling of the urokinase receptor upon internalization of the uPA:serpin complexes. EMBO J 16: 2610–2620
[94] Prager GW, duced initial endothelial cell migration depends on the presence of the urokinase receptor. Circ Res 2004; 94: 1562–1570
[95] Bajou K et al. (2001) The plasminogen activator inhibitor PAI-1 controls in vivo tumor vascularization by interaction with proteases, not vitronectin. Implications for antiangiogenic strategies. J Cell Biol 152: 777–784
[96] Bajou K et al. (2004) Host derived plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) concentration is critical for in vivo tumoral angiogenesis and growth. Oncogene 23: 6986–6990
[97] Devy L et al. (2002) The pro- or antiangiogenic effect of plasminogen activator inhibitor 1 is dose dependent. FASEB J 16: 147–154
[98] Folkman J (1995) Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. Nat Med 1: 27–31
[99] Folkman J (2002) Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis. Semin Oncol 29 (Suppl.16): 15–18
[100] Hajitou A et al. (2002) The antitumoral effect of endostatin and angiostatin is associated with a down-regulation of vascular endothelial growth factor expression in tumor cells. FASEB J 16: 1802–1804
[101] Tarui T et al. (2001) Specific interaction of angiostatin with integrin alpha(v)beta(3) in endothelial cells. J Biol Chem 276: 39562–39568
[102] Carmeliet P (2000) Proteinases in cardiovascular aneurysms and rupture: targets for therapy? J Clin Invest 105: 1519–1520
[103] Carmeliet P et al. (1997) Urokinase but not tissue plasminogen activator mediates arterial neointima formation in mice. Circ Res 81: 829–839

[104] Carmeliet P et al. (1995) Biological effects of disruption of the tissue-type plasminogen activator, urokinasetype plasminogen activator, and plasminogen activator inhibitor-1 genes in mice. Ann NY Acad Sci 1995; 748: 367–381
[105] Smith LH et al. (2006) Pivotal role of PAI-1 in a murine model of hepatic vein thrombosis. Blood 107: 132–134
[106] Eren M et al. (2002) Age-dependent spontaneous coronary arterial thrombosis in transgenic mice that express a stable form of human plasminogen activator inhibitor- 1. Circulation 106: 491–496
[107] Asselbergs FW et al. (2007) Gender-specific correlations of PAI-1 and t-PA levels with cardiovascular diseaserelated traits. J Thromb Haemost 5(2): 313–20
108] De Taeye B et al. (2005) Plasminogen activator inhibitor- 1: a common denominator in obesity, diabetes and cardiovascular disease. Curr Opin Pharmacol 5: 149–154
[109] Vaughan DE (2005) PAI-1 and atherothrombosis. J Thromb Haemost 3: 1879–1883
[110] Vaughan DE (2003) Plasminogen activator inhibitor-1 and the calculus of mortality after myocardial infarction. Circulation 108: 376–377
[111] Vaughan DE (1998) Plasminogen activator inhibitor-1: a common denominator in cardiovascular disease. J Investig Med 46: 370–376
[112] Christ G et al. (1999) Plasmin activation system in restenosis: role in pathogenesis and clinical prediction? J Thromb Thrombolysis 7: 277–285
[113] Christ G et al. (2005) Predictive value of plasma plasminogen activator inhibitor-1 for coronary restenosis: dependence on stent implantation and antithrombotic medication. J Thromb Haemost 3: 233–239
[114] Geppert A et al. (1998) Concentration of endogenous tPA antigen in coronary artery disease: relation to thrombotic events, aspirin treatment, hyperlipidemia, and multivessel disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol 18: 1634–1642
[115] Geppert A et al. (2001) Plasminogen activator inhibitor type 1 and outcome after successful cardiopulmonary resuscitation. Crit Care Med 29: 1670–1677
[116] Gottsauner-Wolf M et al. (1999) Predictive value of PAI-1 plasma activity and thallium perfusion imaging for restenosis after percutaneous transluminal angioplasty in clinically asymptomatic patients. Thromb Haemost 81: 522–526
[117] Peng L et al. (2002) Endogenous vitronectin and plasminogen activator inhibitor-1 promote neointima formation in murine carotid arteries. Arterioscler Thromb Vasc Biol 22: 934–939
[118] Zhu Y et al. (2001) Plasminogen activator inhibitor type 1 enhances neointima formation after oxidative vascular injury in atherosclerosis-prone mice. Circulation 103: 3105–3110
[119] Ploplis VA, Castellino FJ (2001) Attenuation of neointima formation following arterial injury in PAI-1 deficient mice. Ann NY Acad Sci 936: 466–468
[120] Ploplis VA et al. (2004) Enhanced in vitro proliferation of aortic endothelial cells from plasminogen activator inhibitor- 1-deficient mice. J Biol Chem 279: 6143–6151
[121] Vaughan DE (2002) PAI-1 and cellular migration: dabbling in paradox. Arterioscler Thromb Vasc Biol 22: 1522–1523
[122] Kunigal S et al. (2003) Monocyte-expressed urokinase inhibits vascular smooth muscle cell growth by activating Stat1. Blood 102: 4377–4383
[123] Terada H, Urano T, Konno H (2005) Association of interleukin-8 and plasminogen activator system in the progression of colorectal cancer. Eur Surg Res 37(3): 166–172
[124] El Kott AF, Khalil AM, El Kenawy A (2004) Immunohistochemical expressions of uPA and its receptor uPAR and their prognostic significant in urinary bladder carcinoma. Int Urol Nephrol 36(3): 417–423
[125] Bhuvarahamurthy V et al. (2005) Differential gene expression of urokinase-type plasminogen activator and its receptor in human renal cell carcinoma. Oncol Rep 14(3): 777–782
[126] Salajegheh M, Rudnicki A, Smith TW (2005) Expression of urokinase-type plasminogen activator receptor (uPAR) in primary central nervous system neoplasms. Appl Immunohistochem Mol Morphol 13(2): 184–189
[127] Wang J et al. (2006) Expression of urokinase-type plasminogen activator receptor is correlated with metastases of lingual squamous cell carcinoma. Br J Oral Maxillofac Surg 44(6): 515–9
[128] Yue SQ et al. (2004) Relationship between urokinase-type plasminogen activator receptor and vascular endothelial growth factor expression and metastasis of gallbladder cancer. World J Gastroenterol 10(18): 2750–2752
[129] de Bock CE et al. (2005) Inhibition of urokinase receptor gene expression and cell invasion by anti-uPAR DNAzymes in osteosarcoma cells. FEBS J 272(14): 3572–3582
[130] Margheri F et al. (2005) Effects of blocking urokinase receptor signaling by antisense oligonucleotides in a mouse model of experimental prostate cancer bone metastases. Gene Ther 12(8): 702–714
[131] Gondi CS et al. (2004) Downregulation of uPA, uPAR and MMP-9 using small, interfering, hairpin RNA (siRNA) inhibits glioma cell invasion, angiogenesis and tumor growth. Neuron Glia Biol 1(2): 165–176
[132] Kondraganti S et al. (2006) RNAi-mediated downregulation of urokinase plasminogen activator and its receptor in human meningioma cells inhibits tumor invasion and growth. Int J Oncol 28(6): 1353–1360
[133] Dass CR et al. (2006) Downregulation of uPAR confirms link in growth and metastasis of osteosarcoma. Clin Exp Metastasis 23(7–8): 367–80
[134] Rao JS et al. (2005) Inhibition of invasion, angiogenesis, tumor growth, and metastasis by adenovirus-mediated transfer of antisense uPAR and MMP-9 in non-small cell lung cancer cells. Mol Cancer Ther 4(9): 1399–1408
[135] Bauer TW et al. (2005) Targeting of urokinase plasminogen activator receptor in human pancreatic carcinoma cells inhibits c-Met- and insulin-like growth factor-I receptor-mediated migration and invasion and orthotopic tumor growth in mice. Cancer Res 65(17): 7775–7781
[136] Pulukuri SM et al. (2005) RNA interference-directed knockdown of urokinase plasminogen activator and urokinase plasminogen activator receptor inhibits prostate cancer cell invasion, survival, and tumorigenicity in vivo. J Biol Chem 280(43): 36529–36540
[137] Nozaki S et al. (2005) Inhibition of invasion and metastasis in oral cancer by targeting urokinase-type plasminogen activator receptor. Oral Oncol 41(10): 971–977
[138] Aguirre-Ghiso JA et al. (2003) ERK(MAPK) activity as a determinant of tumor growth and dormancy; regulation by p38(SAPK). Cancer Res 63(7): 1684–1695
[139] Aguirre-Ghiso JA et al. (2001) Urokinase receptor and fibronectin regulate the ERK(MAPK) to p38(MAPK) activity ratios that determine carcinoma cell proliferation or dormancy in vivo. Mol Biol Cell 12(4): 863–879
[140] Liu S, Bugge TH, Leppla SH (2001) Targeting of tumor cells by cell surface urokinase plasminogen activator-dependent anthrax toxin. J Biol Chem 276(21): 17976–17984

# Hämostasestörungen

# 30 Hämorrhagische Diathesen

## 30.1 Einleitung

*B. Pötzsch, K. Madlener*



Die hämorrhagische Diathese ist eine Erkrankung des Hämostasesystems mit dem Leitsymptom Blutung. Auslösende Ursache für die Blutungsneigung ist eine angeborene oder erworbene Dysfunktion des Hämostasesystems. Zusammen mit der Blutungsanamnese ist der laboranalytische Nachweis einer Gerinnungsstörung beweisend für das Vorliegen einer hämorrhagischen Diathese. Die Blutungsprophylaxe ist neben der Behandlung von akuten Blutungen ein wesentliches Element in der Therapie der hämorrhagischen Diathese.

### Ätiologie

Die genetische Basis der hereditären hämorrhagischen Diathesen ist breit und reicht von den monogenischen klassischen Faktormangelerkrankungen mit unterschiedlichsten Mutationstypen, wie dem hereditären FVIII- oder FIX-Mangel (Hämophilie A bzw. B), bis hin zu multifaktoriellen Erkrankungen, wie z. B. den hereditären Vasopathien.

Die erworbenen hämorrhagischen Diathesen können in primäre und sekundäre Formen unterteilt werden. Bei den primären Formen ist das Hämostasesystem unmittelbar betroffen, während bei den sekundären Formen die Hämostasestörung durch eine Grunderkrankung ausgelöst wird. Die Hemmkörperhämophilie und die Immunthrombozytopenie sind Beispiele für eine primär erworbene hämorrhagische Diathese, während die mit einer monoklonalen Gammopathie oder einer Leberfunktionsstörung verbundenen Blutungsneigungen Beispiele für eine sekundär erworbene hämorrhagische Diathese darstellen (◘ Abb. 30.1).

Bei den hereditären und primär erworbenen hämorrhagischen Diathesen wird eine Differenzierung entsprechend der betroffenen Hämostasekomponente in thrombozytäre, plasmatische, fibrinolytische und vaskuläre hämorrhagische Diathesen vorgenommen. Eine derartige Differenzierung ist bei den sekundär erworbenen hämorrhagischen Diathesen nicht sinnvoll, da meist mehrere Hämostasekomponenten betroffen sind. Deswegen werden sekundär erworbene hämorrhagische Diathesen nach dem betroffenen Organsystem oder nach der Grunderkrankung differenziert. Beispiele sind die hepatische oder malignomassoziierte Gerinnungsstörung.

### Klinische Symptomatik

Die Spannbreite des klinischen Phänotyps ist breit und kann von Hämatomneigung und verlängerten Nachblutungen nach kleineren Verletzungen bis zu lebensbedrohlichen Blutungen reichen (Greaves 2001, Rodeghiero 2007). In der Übersicht sind typische Symptome einer hämorrhagischen Diathese aufgeführt. Die Art und Schwere der auftretenden Blutung sind in erster Linie abhängig von der betroffenen Hämostasekomponente und dem Ausmaß der Dysfunktion.

**Klinische Symptome der hämorrhagischen Diathese**

- Hämatomneigung (Ausbildung von Hämatomen auch am Stammbereich und ohne erinnerliches Trauma)
- Suggilationen (flächenhaft zusammenfließende Hämatome)
- petechiale Blutungen im Haut- und Schleimhautbereich
- rezidivierendes und wechselseitiges Epistaxis nasi
- lang anhaltende Blutungen auch nach kleineren Verletzungen
- operationsinadäquate Blutungen
- spontane intraartikuläre oder intramuskuläre Blutungen
- gynäkologisch nicht erklärbare Hb-wirksame Menstruationsblutungen

Bei schweren hereditären Formen treten die ersten Blutungssymptome häufig schon in den ersten Lebensjahren auf, wohingegen Patienten mit milden Verlaufsformen Blutungskomplikationen erst in typischen Risikosituationen, wie z. B. nach Verletzungen oder operativen Eingriffen entwickeln.

Der zeitliche Verlauf und die Art der auftretenden Blutung lassen vielfach Rückschlüsse auf die betroffene Hämostasekomponente zu. Petechiale Blutungen sind ein typisches Zeichen einer Thrombozytopenie oder einer Thrombozytenfunktionsstörung. Gelenkblutungen und intramuskuläre Blutungen treten typischerweise bei Patienten mit einem FVIII- oder FIX-Mangel auf, sie sind bei allen

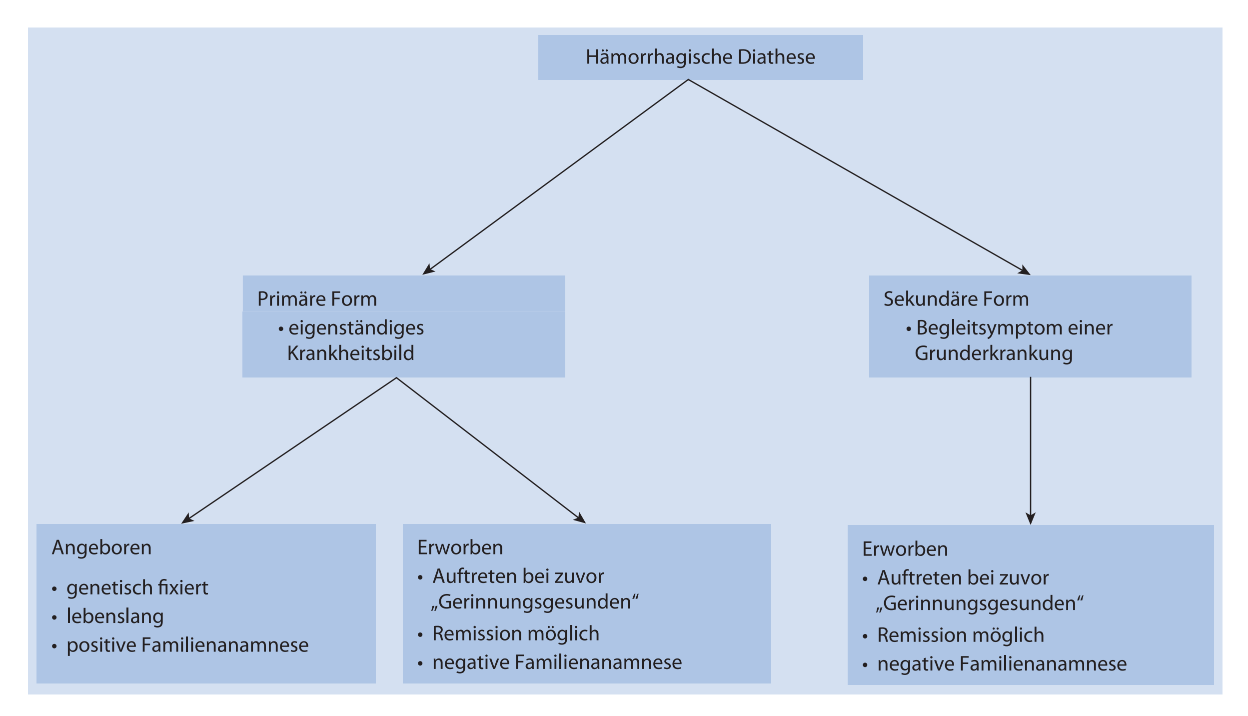



**Abb. 30.1.** Systematik der hämorrhagischen Diathese

anderen hämorrhagischen Diathesen aber eher selten zu beobachten. Blutungen, die nach einer initialen Blutstillung verzögert auftreten, sind charakteristisch für eine Hyperfibrinolyseblutung oder für einen FXIII-Mangel.

### Grundprinzipien des diagnostischen und therapeutischen Vorgehens

Für das diagnostische und therapeutische Vorgehen bestimmende Faktoren sind die aktuelle Blutungssymptomatik, die Blutungsanamnese und das Vorliegen einer prädisponierenden Grunderkrankung.

Besteht der Verdacht auf das Vorliegen einer hämorrhagischen Diathese und bestehen aktuell keine Blutungszeichen, ist es das erste Diagnoseziel, die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer hämorrhagischen Diathese zu bestimmen. Dies wird durch die Bewertung der Anamnese, durch eine körperliche Untersuchung und durch laboranalytische Testverfahren erreicht. Ergeben sich keine Anhaltspunkte für das Vorliegen einer Blutungsneigung, ist eine Ausweitung der Laboranalytik nicht notwendig. Ergeben sich Anhaltspunkte für das Vorliegen einer Blutungsneigung, können der Blutungstyp und die Ergebnisse der Voruntersuchungen die Auswahl der weiterführenden Laboranalytik bestimmen.

Nach Diagnosestellung einer hämorrhagischen Diathese ist es das Ziel, eine Blutung zu verhindern und für den Fall einer Blutung das therapeutische Vorgehen festzulegen. In der Blutungsprophylaxe wird zwischen einer kontinuierlichen und einer risikoadaptierten Prophylaxe unterschieden (Franchini 2007, Manco-Johnson 2007). In der Mehrzahl der Patienten ist eine risikoadaptierte Prophylaxe ausreichend, z. B. in der Vorbereitung von interventionellen Eingriffen. Die kontinuierliche Prophylaxe wird bei Patienten mit schweren hämorrhagischen Diathesen, wie z. B. einer schweren Hämophilie A, in Lebensphasen durchgeführt, die mit einem hohen Blutungsrisiko verbunden sind. Die Möglichkeit zur kontinuierlichen Blutungsprophylaxe ist nur gegeben, wenn auch ein geeignetes Medikament für die Therapie zur Verfügung steht (z. B. FVIII-Konzentrat bei Hämophilie A; Manco-Johnson 2007).

Die meisten hämorrhagischen Diathesen gehören zu den chronischen Erkrankungen, von denen die Patienten lebenslang betroffen sind. Für die Patientenführung ist es deswegen wichtig, den Patienten mit seiner Erkrankung vertraut zu machen, sodass für ihn eine weitestgehend normale Lebensführung möglich wird, ohne dabei die krankheitsspezifischen Risiken zu unterschätzen. Für ein unvorhergesehenes Blutungsereignis sollte ein Notfallausweis mit einem Substitutionsregime ausgestellt werden.

Verschiedene hämorrhagische Diathesen können durch genetische Diagnostik pränatal nachgewiesen werden. Die Indikation zur Durchführung einer solchen Diagnostik ist abhängig von der Art der vermuteten hämorrhagischen Diathese und der Konsequenzen für das weitere medizinische Management, wie z. B. dem Geburtsmanagement. In jedem Fall sollte mit den Eltern vor

Durchführung einer derartigen Diagnostik die möglichen Konsequenzen besprochen werden.

Besteht der Verdacht auf das Vorliegen einer hämorrhagischen Diathese aufgrund einer Blutung, die durch ein Trauma nicht ausreichend erklärt werden kann, ist das diagnostische und therapeutische Vorgehen abhängig vom Schweregrad der Blutung (Shen 2007).

Bei lebensbedrohlichen Blutungen stehen die therapeutischen Maßnahmen im Vordergrund. Das Spektrum der zur Diagnosestellung eingesetzten Testverfahren ist in der Regel auf die Thrombozytenzahlbestimmung, die Thromboplastinzeit, die aktivierte partielle Thromboplastinzeit und wenige andere Verfahren begrenzt, die kurzfristig durchführbar sind. Trotzdem kann mit diesen Testverfahren eine erste differenzialdiagnostische Abklärung erreicht werden. Bei nicht lebensbedrohlichen Blutungen ist eine differenziertere Laboranalytik möglich.



Bei Patienten mit sekundär erworbenen Hämostasestörungen kann eine kausale Therapie nur durch Behandlung der Grunderkrankung erreicht werden. Vielfach ist dies nicht möglich oder nicht kurzfristig zu erreichen. Die in diesen Fällen durchgeführte Hämostasetherapie ist eine supportive Therapie mit dem Ziel, die Hämostasestörung soweit zu kompensieren, dass die Blutung gestoppt und weiterführende diagnostische und therapeutische Ansätze durchgeführt werden können.

### Literatur

Franchini M, Targher G, Lippi G (2007) Prophylaxis in von Willebrand disease. Ann Hematol 86: 699–704

Greaves M, Preston FE (2001) Approach to the bleeding patient. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Clowes AW, George JN (eds.). Hemostasis and Thrombosis – basic principles and clinical practice, 4th ed. Lippincott Williams and Wilkins. pp 783–794

Manco-Johnson MJ, Abshire TC, Shapiro AD et al. (2007) Prophylaxis versus episodic treatment to prevent joint disease in boys with severe hemophilia. N Engl J Med 357: 535–544

Rodeghiero F, Tosetto A, Castman G (2007) How to estimate bleeding risk in mild bleeding disorders. J Thromb Haemost 5 (Suppl 1): 157–166

Shen YM, Frenkel EP (2007) Acquired platelet dysfunction. Hematol Oncol Clin North Am 21: 647–661

## 30.2 Thrombozytenbildungs-, Abbau- und Verteilungsstörungen

*V. Kiefel*



### Einleitung

Eine Thrombozytopenie kann verschiedene Ursachen haben und in jedem Lebensalter auftreten. Hereditäre Thrombozytopenien sind Folge einer Beeinträchtigung der Thrombozytopoese im Fall der kongenitalen amegakaryozytären Thrombozytopenie (CAMT), der Thrombozytopenie mit Radiusaplasie, der amegakaryozytären Thrombozytopenie mit radioulnarer Synostose, der Thrombozytopenie bei der Fanconi-Anämie und des Wiskott-Aldrich-Syndroms. Als erworbene hyporegenerative Thrombozytopenie ist die Thrombozytopenie bei der schweren aplastischen Anämie und – häufiger – nach Therapie mit zytostatischen Substanzen anzusprechen.

Thrombozytäre Autoantikörper sind Ursache für die Autoimmunthrombozytopenie (AITP) und für bestimmte Formen von zyklischer Thrombozytopenie. Sie verursachen selten isolierte thrombozytäre Funktionsstörungen. Thrombozytäre Alloantikörper sind für fetale und neonatale Immunthrombozytopenien verantwortlich. Sie lösen mit einer Thrombozytopenie einhergehende Transfusionsreaktionen aus. Nach Gabe von Medikamenten kann es durch Schädigung der Thrombozytopoese und durch Bildung spezifischer Antikörper zu Thrombozytopenien kommen. Grundlegende Mechanismen bei der Entstehung einer Thrombozytopenie und Prinzipien zu ihrer Diagnose und Behandlung sind in ► Kap. 41 beschrieben.

### 30.2.1 Thrombozytopenie bei eingeschränkter Thrombozytopoese

#### Hereditäre Formen

**Kongenitale amegakaryozytäre Thrombozytopenie.** Die kongenitale amegakaryozytäre Thrombozytopenie (CAMT) ist eine seltene Erkrankung mit ausgeprägter Thrombozytopenie bereits bei der Geburt aufgrund weitgehend fehlender Megakaryozyten. Im Unterschied zum TAR-Syndrom, zur amegakaryozytären Thrombozytopenie mit radioulnarer Synostose und zur Fanconi-Anämie weisen die betroffenen Patienten keine Skelettanomalien auf. Die Erkrankung entwickelt sich in den ersten Lebensjahren meist in eine aplastische Anämie weiter (King et al. 2005). Der Erkrankung liegen c-mpl-Mutationen zugrunde (Ballmaier et al. 2001). Der einzige kurative Therapieansatz besteht in einer Transplantation hämatopoetischer Stammzellen.

**Thrombozytopenie mit Radiusaplasie (TAR-Syndrom).** Bei der Thrombozytopenie mit Radiusaplasie (TAR-Syndrom; thrombocytopenia and absent radii) handelt es sich um eine kongenitale, meist ausgeprägte Thrombozytopenie, kombiniert mit einer beidseitigen Radiusaplasie. Die Erkrankung geht teilweise mit weiteren Anomalien einher: Missbildungen im Bereich der unteren Extremitäten, Missbildungen der Nieren und ableitenden Harnwege und Herzmissbildungen. Häufig liegt auch eine Kuhmilchunverträglichkeit vor (Greenhalgh et al. 2002). Der dieser Erkrankung zugrunde liegende molekulare Defekt ist zurzeit nicht definitiv geklärt. Kürzlich wurde bei einer Serie von 30 betroffenen Patienten eine Mikrodeletion auf dem Chromosom 1q21.1 gefunden, wobei die Autoren vermuten, dass bei Phänotypträgern ein weiteres bisher unbekanntes modifizierendes genetisches Merkmal vorliegen muss (Klopocki et al. 2007). Die zunächst meist ausgeprägte Thrombozytopenie bessert sich mit zunehmendem Lebensalter. In kritischen Situationen bei ausgeprägter Thrombozytopenie helfen Thrombozytentransfusionen.

**Amegakaryozytäre Thrombozytopenie mit radioulnarer Synostose.** Ein weiteres Syndrom mit kongenitaler Thrombozytopenie und Skelettanomalien wurde von Thompson und Mitarbeitern beschrieben (Thompson et al. 2001). Betroffene Patienten weisen proximale radioulnare Synostosen auf, die sich von den Missbildungen beim TAR-Syndrom unterscheiden. Das Syndrom ist mit Mutationen des HOXA11-Gens assoziiert (Thompson u. Nguyen 2000).

**Wiskott-Aldrich-Syndrom.** Patienten mit Wiskott-Aldrich-Syndrom (WAS) weisen eine Thrombozytopenie mit Mikrothrombozyten, Ekzemen und einen komplexen Immundefekt auf. Die Erkrankung wird X-chromosomal rezessiv vererbt. Die klinische Ausprägung weist ein hohes Maß an Variabilität auf, eine milde Variante wird als **X-chromosomale Thrombozytopenie** (»X-linked thrombocytopenia«; XLT) bezeichnet. Der Erkrankung liegen Mutationen des WAS-Protein-(WASP-)Gens zugrunde (Derry et al. 1994, Zhu et al. 1997). WASP ist auf hämatopoetischen Stammzellen exprimiert.

Die Thrombozytopenie kann bereits in der Neugeborenenperiode zu Blutungen führen. Die Thrombozytopenie soll v. a. auf einer ineffektiven Thrombozytopoese beruhen. Teilweise soll die Thrombozytenlebenszeit verkürzt sein. Häufig, oft in den ersten 6 Lebensmonaten, kommt es zu bakteriellen Infektionen (Otitis media, Infekte der Atemwege, Diarrhoe). Auch virale Infektionen, wie z. B. disseminierte Herpesinfektionen, werden beobachtet. Mit zunehmendem Alter werden Autoimmunerkrankungen (z. B. autoimmunhämolytische Anämien und Vaskulitiden) beobachtet (Sullivan et al. 1994). Bei einem Teil der Patienten entwickeln sich lymphoproliferative Erkrankungen. Zu Ekzemen kommt es bei den meisten betroffenen Patienten. Auffälligkeiten des Immunsystems betreffen die humorale Immunität und T-Zell-abhängige Funktionen. Häufig ist eine Erniedrigung der IgM-Konzentration und eine Erhöhung der Konzentration von IgA und IgE bei normaler IgG-Konzentration festzustellen (Zhu et al. 1997).

Zur Therapie der Thrombozytopenie erwiesen sich in einer größeren Beobachtungsstudie Kortikosteroide als wirksam (Sullivan et al. 1994), wobei einzelne Autoren davon ausgehen, dass bei einem Teil der Patienten zusätzlich ein AITP-ähnlicher Zustand vorliegt, allerdings ist die Gabe von intravenösem IgG (i.v.IgG) allein nicht zuverlässig wirksam. Bei Blutungen werden Thrombozytentranfusionen gegeben, wobei die Thrombozyten zur Vermeidung einer transfusionsassoziierten GvHK (Graft-versus-Host-Krankheit) bestrahlt werden sollten (Bolton-Maggs et al. 2006). Die einzige kurative Therapie bei schweren Verlaufsformen besteht in einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation (Sullivan et al. 1994, Bolton-Maggs et al. 2006).

**Fanconi-Anämie.** Eine Thrombozytopenie entwickelt sich bei Patienten mit einer Fanconi-Anämie im Rahmen einer Panzytopenie. Diese entwickelt sich zwischen dem 5. bis 10. Lebensjahr. Zu den Symptomen einer Fanconi-Anämie gehören Wachstumsretardierung, Skelettanomalien, zum Teil mit dysplastischen Daumen und Radii und bei etwa 50% der Patienten Hyperpigmentierungen der Haut (Café-au-lait-Flecken). Der Erkrankung liegen genetische Defekte zugrunde, die eine chromosomale Instabilität bedingen. Zellen von Patienten mit Fanconi-Anämie weisen daher in vitro eine gesteigerte Empfindlichkeit gegenüber Substanzen auf, die eine Quervernetzung (»crosslinking«) von DNA verursachen können, z. B. Diepoxybutan (DEB; d'Apolito et al. 1998).

In Zellfusionsexperimenten kann die Eigenschaft der erhöhten Empfindlichkeit einer von einem Patienten stam-

menden Zelllinie gegenüber DEB korrigiert werden, wenn die andere Zelle entweder von einer gesunden Person stammt oder von einem Patienten mit einem anderen Defekt. Auf diese Weise wurde phänotypisch die Heterogenität der zugrunde liegenden Defekte belegt (»complementation groups«). Inzwischen sind die meisten der diesen »complementation groups« entsprechenden Gene kloniert worden (die häufigsten sind FANCA, FANCC und FANCG; Joenje u. Patel 2001). Beim Auftreten von Zeichen der Panzytopenie kann zunächst eine Therapie mit Androgenen oder G-CSF versucht werden, eine kurative Therapie besteht in der Transplantation hämatopoetischer Stammzellen.

#### Erworbene Formen

Hyporegenerative Thrombozytopenien gibt es grundsätzlich bei allen Erkrankungen und Reaktionen, die zu einer Schädigung des blutbildenden Knochenmarks führen. Wenn eine Thrombozytopenie bei einer schweren aplastischen Anämie einer Substitution mit Thrombozyten bedarf, besteht ein Problem in einer Alloimmunisierung besonders gegen HLA Klasse I-Antigene. Eine Thrombozytopenie besteht auch bei einem Teil der Patienten mit einem myelodysplastischen Syndrom. Besonders häufig dürften iatrogene Thrombozytopenien sein, bei denen die Schädigung der Hämatopoese unvermeidbare Folge einer Therapie mit zytostatischen Substanzen ist. Bei extremer hyporegenerativer Thrombozytopenie können Thrombozytentransfusionen notwendig sein, um eine schwerwiegende Blutungskomplikation, z. B. eine zerebrale Blutung, zu vermeiden. Als »Triggerwert« zur Thrombozytentransfusion bei nicht manifest blutenden Patienten mit hämatologischen oder onkologischen Erkrankungen wird in aktuellen Leitlinien ein Wert von $10\times10^9$/l angegeben (British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force 2003, Greinacher et al. 2006), bei Patienten mit zusätzlichen, zu Blutungen prädisponierenden Risiken (Infektionen, Fieber, zusätzliche plasmatische Gerinnungsstörung, schwere GvHK) werden Thrombozytentransfusionen bei Unterschreitung eines Werts von $20\times10^9$ Thrombozyten/l empfohlen.

### 30.2.2 Thrombozytopenie infolge thrombozytärer Verteilungsstörungen

Bei Menschen mit einer normal großen Milz zirkulieren etwa zwei Drittel der Thrombozyten, etwa ein Drittel wird zeitweilig in der Milz gespeichert. Bei Patienten mit einer Splenomegalie nimmt der Anteil zirkulierender Thrombozyten bei etwa gleichbleibender Gesamtzahl der Thrombozyten ab (George 2001). Es kommt jedoch nicht zu einer wirksamen Gegenregulation im Sinne einer Anregung der Thrombozytopoese. Häufig tritt eine Splenomegalie bei Patienten mit einer chronischen Lebererkrankung oder Leberzirrhose mit portaler Hypertension auf. Dabei wird diskutiert, ob es bei dieser Befundkonstellation nicht zusätzlich zu einer Reduktion der Thrombozytopoese kommt, da Patienten mit Leberzirrhose niedrigere Thrombopoetinkonzentrationen aufweisen (Rios et al. 2005). Das Phänomen einer Verlagerung eines größeren Anteils der Thrombozyten in eine vergrößerte Milz ist jedoch auch ein Problem bei substitutionsbedürftigen Patienten mit einer ausgeprägten Splenomegalie: normale therapeutische Dosen führen aufgrund der Speicherung eines großen Anteils auch der transfundierten Thrombozyten zu kaum feststellbaren Thrombozyteninkrementen.

### 30.2.3 Thrombozytopenie infolge eines beschleunigten Abbaus oder Verbrauchs

Verschiedene Ursachen können einen erhöhten Verbrauch und eine beschleunigte Zerstörung von Thrombozyten bedingen. Eine besondere Bedeutung haben die im Folgenden beschriebenen Formen immunologisch induzierter Thrombozytopenien. Thrombozyten können aber auch im Rahmen nicht immunologischer Prozesse beschleunigt verbraucht oder abgebaut werden: im Rahmen einer DIC (▶ Kap. 10.3) oder lokal in Hämangiomen, die bei Neugeborenen und Kindern im Rahmen des Kasabach-Merritt-Syndroms beobachtet werden. Im Rahmen komplexer Störungen des Hämostasesystems werden Thrombozyten auch bei HUS und TTP beschleunigt zerstört (▶ Kap. 10.1).

Als Kasabach-Merritt-Syndrom bezeichnet man eine Thrombozytopenie, die meist bei Kindern mit Hämangiomen auftritt, wobei sich diese Hämangiome zunächst rasch vergrößern können. Die Hämangiome können die Haut oder auch innere Organe betreffen. Bei einem Teil der Patienten bilden sich die Hämangiome dann später spontan zurück. Bei der Entstehung der Thrombozytopenie soll ein Verbrauch von Thrombozyten am rasch proliferierenden Endothel im Hämangiom im Vordergrund stehen. Im Rahmen einer Thrombozytenaktivierung kommt es dann sekundär zu einem Verbrauch von Gerinnungsfaktoren. Bei Blutungen müssen in Einzelfällen Gerinnungsfaktoren und Thrombozyten substituiert werden, die Behandlung der Hämangiome hängt von Ausdehnung und Organbeteiligung ab: selten chirurgische Entfernung, Embolisierung, Kortikosteroide, lokale Kompression, gelegentlich noch Bestrahlung (Hall 2001).

#### Autoimmunthrombozytopenie

Arbeiten zur Pathogenese der idiopathischen thrombozytopenischen Purpura (ITP) stammen von Harrington und

Shulman (Harrington et al. 1951, Shulman et al. 1965). Diese Autoren wiesen in der 7s Gammaglobulinfraktion des Plasmas von Patienten mit ITP einen Faktor nach, der bei Infusion von Plasmapräparaten, die von diesen Patienten gewonnen wurden, bei gesunden Probanden einen reversiblen Abfall der peripheren Thrombozytenzahl bewirkten. Seitdem wird die ITP als Erkrankung mit einer immunologischen Pathogenese betrachtet, die idiopathischen und sekundären Formen werden im Folgenden unter dem Begriff der Autoimmunthrombozytopenie (AITP) zusammengefasst. Die Inzidenz der AITP bei Erwachsenen in Dänemark wurde mit 3,2 pro 100.000 und Jahr bestimmt, wenn ein Grenzwert von $50 \times 10^9$ Thrombozyten/l zugrunde gelegt wurde (Frederiksen u. Schmidt 1999), eine britische Studie ermittelte eine Inzidenz von 1,6 pro 100.000 jährlich (Neylon et al. 2003).

## Klinische Symptome

**Die akute, postinfektiöse Verlaufsform der AITP** tritt besonders häufig bei Kindern bis zum 10. Lebensjahr auf, wobei der Erkrankung meist einige Tage ein viraler Infekt vorausgeht. In seltenen Fällen kann auch eine Immunisierung mit Impfstoffen (Varizellen, Hepatitis B) eine akute AITP auslösen. Die Thrombozytenzahl ist in der Regel stark erniedrigt, meist liegt sie unter $20 \times 10^9$/l. Als Symptome der vermehrten Blutungsneigung fallen am häufigsten spontan entstandene Petechien im Bereich der Haut und Hämatome bereits nach geringfügigen Traumen auf. In der Regel verschwinden die Symptome nach Tagen oder Wochen. Wenn eine AITP länger als 6 Monate andauert, spricht man von einer chronischen Form.

Bei der **chronischen AITP** können die Symptome schleichend beginnen, die Thrombozytenzahl kann fluktuieren, zeitweilig kann es zu vorübergehender Normalisierung kommen. Nicht selten wird die Diagnose anlässlich einer Blutbild-Untersuchung gestellt, die aus anderen Gründen veranlasst wurde. Die chronische AITP wird in allen Altersstufen beobachtet, weibliche Patienten sind etwa bis zu zweimal häufiger betroffen. Die Kombination einer AITP mit einer autoimmunhämolytischen Anämie vom Wärmetyp wird als Evans-Syndrom bezeichnet. Manchmal schließt dieses Syndrom zusätzlich noch eine Autoimmunneutropenie mit ein. Eine sekundäre AITP tritt nicht selten in Begleitung eines systemischen Lupus erythematodes, anderer Kollagenosen oder einer chronischen lymphatischen Leukämie auf, sie wird gelegentlich auch in Begleitung von Karzinomen beobachtet.

Auch bei Patientinnen mit einer **zyklischen Thrombozytopenie**, bei denen thrombozytopenische Phasen teilweise mit den Monatsblutungen synchronisiert sind, sprechen nachweisbare Autoantikörper gegen thrombozytäre Glykoproteine dafür, dass in einem Teil der Fälle ein einer AITP ähnliches Krankheitsbild vorliegt (Menitove et al. 1989, Kosugi et al. 1994, Rice et al. 2001). Bei den betroffenen Patientinnen besteht eine oft ausgeprägte Thrombozytopenie zu Beginn der Menses, die einige Tage später verschwindet (Tomer et al. 1989). Gelegentlich wird eine zyklische Thrombozytopenie auch bei männlichen Patienten beobachtet.

Bei den meisten Patienten mit einer ausgeprägteren Thrombozytopenie im Verlauf einer AITP sind Zeichen der vermehrten Blutungsneigung im Bereich der Haut sichtbar: Petechien im Bereich der abhängigen Körperpartien. Größere flächenhafte Blutungen können spontan, nach minimalen Traumen oder an Punktionsstellen entstehen. Gelegentlich kommt es zu gastrointestinalen Blutungen, Menorrhagien oder Hämaturie, Gelenkblutungen sind dagegen ganz untypisch für Patienten mit einem allein durch Störung der primären Hämostase bedingten Blutungstyp. Die gefürchtetste Komplikation, eine zerebrale Blutung, tritt nur bei etwa einem Prozent der Patienten mit einer AITP auf.

Der wichtigste Grund zur Einleitung einer Therapie besteht in der Vermeidung einer zerebralen Blutung. Einen Hinweis auf eine Zunahme der Blutungsneigung gibt die Verlaufsform der »wet purpura«, die durch Blutungszeichen im Bereich der Schleimhäute und Nasenbluten gekennzeichnet ist. Patienten mit »dry purpura« weisen dagegen nur Petechien und Ekchymosen im Bereich der Haut auf.

## Diagnose

Die Diagnose der »idiopathischen« AITP, v. a. der postinfektiösen Form im Kindesalter, erfolgt meist anhand von Kriterien, bei denen eine thrombozytäre Bildungsstörung, eine Verteilungsstörung (z. B. im Rahmen einer Splenomegalie) und ein beschleunigter Verbrauch oder Abbau von Thrombozyten aufgrund nicht immunologischer Mechanismen ausgeschlossen wird. In der Regel, zumindest bei erwachsenen Patienten wird die Untersuchung eines Patienten, mit einer länger anhaltenden Thrombozytopenie auch die Untersuchung einer Knochenmarkbiopsie einschließen.

Beim Einsatz von Untersuchungsverfahren, die direkt oder indirekt eine Schätzung des Thrombozytenumsatzes erlauben, wird man Hinweise auf eine Steigerung durch beschleunigte Thrombozytenelimination finden. In Fällen, bei denen eine weitergehende Absicherung der Diagnose wünschenswert erscheint, sollten thrombozytäre Autoantikörper untersucht werden. Nach gegenwärtigem Kenntnisstand ist die Bestimmung glykoproteinspezifischer Antikörper auf den GP IIb-IIIa, Ib-IX und V autologer Thrombozyten der für die Diagnose einer AITP spezifischste Parameter (GP-PAIgG, Einzelheiten zur Bestimmung sind in ► Kap. 60).

Ein alternatives Verfahren zur Messung von GP-PAIgG besteht in der Untersuchung eines von den autologen Thrombozyten hergestellten Eluats in einem Antiglobulinbindungstest. Weiterhin kann man GP-spezifische thrombozytäre Autoantikörper im Serum bzw. Plasma nachweisen, jedoch weist dieser Parameter eine niedrigere Sensiti-

vität auf (Kiefel et al. 1996). Bei den beschriebenen Verfahren hat ein positiver Befund einen hohen prädiktiven Wert für eine AITP, während ein negativer Befund eine AITP nicht ausschließt. Die früher geübte quantitative Messung von plättchenassoziiertem IgG (IgM, IgA) entspricht nicht mehr den aktuellen Anforderungen.

### Therapie

Eine Indikation zur Therapie ist in der Regel bei einer manifesten Blutung gegeben, die vital bedrohlich ist oder die die Funktion eines Organs bedroht. Bei Thrombozytopenie wird häufig aus einer prophylaktischen Indikation heraus therapiert. Die Indikation zur Therapie sollte dabei weniger von der Thrombozytenzahl als von der Blutungsneigung abhängig gemacht werden. Bei kleinen Kindern wird in der kritischen Phase einer akuten AITP mit extrem niedriger Thrombozytenzahl das Risiko für eine intrazerebrale Blutung geringer, wenn es gelingt, die körperliche Aktivität einzuschränken. Bei der Entscheidung über die Therapieoptionen zur AITP ist auch zu berücksichtigen, dass das Risiko für Blutungen mit zunehmendem Alter zunimmt. Acetylsalicylsäure und andere Medikamente, die die Thrombozytenfunktion beeinträchtigen, sollten vermieden werden.

30

**Gut etablierte therapeutische Prinzipien der AITP**

- Kortikosteroide: Prednison (oral) in einer Dosis von 1–2 mg/kgKG pro Tag
- hoch dosiertes i.v.IgG (7s) in einer Dosis von 0,4 g/kgKG an 5 aufeinanderfolgenden Tagen
- Splenektomie bei Patienten mit einer konservativ nicht beherrschbaren chronischen AITP

Hoch dosiertes IgG führt meist innerhalb von 1–7 Tagen zu einer Abnahme der Blutungsneigung und zu einem Anstieg der Thrombozytenzahl, die dann aber meist innerhalb der darauf folgenden Tage oder Wochen wieder absinkt. Es ist damit für die Dauertherapie der chronischen AITP wenig geeignet, sondern eher geeignet zur Beherrschung von schweren thrombozytopenischen Phasen und vor der Durchführung von operativen Eingriffen. Auch Kortikosteroide sollten zeitlich begrenzt eingesetzt werden. Ein alternatives Therapieschema zur Behandlung der AITP besteht in der Gabe von Dexamethason in 6 Zyklen von je 28 Tagen, bei denen an Tag 1–4 jeweils 40 mg Dexamethason verabreicht werden (Andersen 1994).

Eine Splenektomie führt in 60–70% der Fälle zu einer kompletten Remission (Kojouri et al. 2004). Ein besonderes Risiko splenektomierter Patienten besteht in einer gesteigerten Neigung zu septischen Komplikationen. Deshalb sollten Patienten zuvor mit einer polyvalenten Pneumokokkenvakzine und ggf. einer Haemophilus-influenzae-Typ b-Vakzine und einer Meningokokkenvakzine geimpft werden. Im Kindesalter sollte eine Splenektomie nicht vor dem 6. Lebensjahr vorgenommen werden, und auch später sollte die Indikation bei Kindern nur zurückhaltend gestellt werden.

Eine relativ nebenwirkungsarme Therapieform bei Rhesus-(D)positiven Patienten ist die Infusion von intravenösem Anti-D (IgG). Dabei werden 2 Einzeldosen von 20 μg/kgKG injiziert. Wenn eine intravenöse Präparation nicht zur Verfügung steht, kann Anti-D auch über eine subkutane Infusion verabreicht werden (Meyer et al. 2006). Darüber hinaus soll die Rate von Nebenwirkungen bei subkutaner Gabe niedriger liegen. Wenn die Gabe von Kortikosteroiden nicht ausreichend wirksam ist oder mit dieser Substanzgruppe verbundene Risiken vermieden werden sollen, können immunsuppressive Substanzen wirksam sein. Azathioprin wird in einer Dosierung von ca. 2 mg/kgKG bei AITP eingesetzt (Quiquandon et al. 1990). Bei Azathioprin, besonders aber bei Gabe von Zyklophosphamid zur Behandlung von Patienten mit bedrohlicher therapierefraktärer chronischer AITP (siehe unten) sind akute Risiken und mögliche Langzeitfolgen sorgfältig gegen einen möglichen Nutzen abzuwägen (Reiner et al. 1995).

Zur Therapie eines akut blutenden Patienten kann man i.v.IgG verabreichen, die Gesamtdosis (2 g/kgKG) kann auf 2 Gaben aufgeteilt an 2 aufeinander folgenden Tagen verabreicht werden. Während es im Rahmen einer prophylaktischen Indikation bei AITP keine Indikation für Thrombozytentransfusionen gibt, können sie als Ultima Ratio bei bedrohlich blutenden Patienten eingesetzt werden. Dann sollten sie aber in deutlich höheren Dosen als bei Patienten mit hyporegenerativer Thrombozytopenie gegeben werden. Bei bedrohlichen Blutungen, die durch andere Maßnahmen nicht beherrschbar sind, kann auch eine Behandlung mit rFVIIa versucht werden (Culic 2003, Barnes et al. 2005).

Ein besonderes Problem stellt die Behandlung von Patienten mit chronischer therapierefraktärer Autoimmunthrombozytopenie dar. Bei diesen Patienten werden vielfach neue, experimentelle Therapieoptionen eingesetzt. Rituximab, ein therapeutischer CD20-Antikörper wird in einer Dosierung von 375 mg/m$^2$ Körperoberfläche jeweils einmal wöchentlich über einen Zeitraum von 4 Wochen gegeben. Zu einer teilweisen Remission kommt es bei etwa 63% der behandelten Patienten (Arnold et al. 2007). Ein neues Therapieprinzip zur Behandlung der AITP sind Thrombopoetinanaloga (Kuter 1998; ► Kap. 50.7). Gegenwärtig bestehen die meisten Erfahrungen mit AMG531, einer subkutan applizierbaren Substanz.

### Neonatale Alloimmunthrombozytopenie

Die Immunisierung einer Schwangeren gegen ein thrombozytäres Alloantigen kann durch diaplazentaren Transfer des Alloantikörpers (IgG) zu einer Alloimmunthrombozy-

topenie beim Feten und Neugeborenen (neonatale Alloimmunthrombozytopenie; NAIT) führen. Die Pathogenese der NAIT ähnelt damit der des Morbus haemolyticus neonatorum, wobei ein Unterschied darin besteht, dass eine NAIT bereits das erste Kind betreffen kann. In einer großen retrospektiven Untersuchung war dies bei 42% der Schwangeren der Fall (Mueller-Eckhardt et al. 1989).

Am häufigsten werden Antikörper der Spezifität HPA-1a (HPA = »human platelet antigen«; Tab. 30.1) gefunden, die mit einem Antigen auf dem thrombozytären GP IIIa reagieren. Von der Immunisierung sind nur Frauen mit dem Genotyp HPA-1a-b+ (Frequenz ca. 2,5%) betroffen, wenn die Thrombozyten des Feten HPA-1a+ sind. Die klinisch bedrohlichste Komplikation, eine zerebrale Blutung, kann intrauterin, unter der Geburt oder in den ersten Lebenstagen auftreten. Bei gegebener Antigenkonstellation (Mutter HPA-a-b+, Kind HPA-1a+) kommt es nur in etwa 10% der Fälle zu einer Immunisierung (Williamson et al. 1998), wobei sich fast ausschließlich Schwangere immunisieren, bei denen sich das HLA-Antigen HLA-DRB3*0101 nachweisen lässt.

Anti-HPA-1a ist für etwa 85% der Fälle einer NAIT verantwortlich, der zweithäufigste Antikörper ist Anti-HPA-5b. Alloantikörper gegen weitere in Tab. 30.1 genannte Antigene sind viel seltener Ursache einer NAIT. Der HPA-4-Polymorphismus wurde bei Japanern entdeckt und inzwischen auch in anderen ostasiatischen Populationen nachgewiesen, Europäer weisen fast stets den Phänotyp HPA-4a+b- auf.

Eine NAIT kann auch durch einen Alloantikörper gegen ein extrem niedrigfrequentes Antigen ausgelöst werden. Solche Fälle werden nur durch ein Crossmatch bei der Analyse einer mütterlichen Probe entdeckt, bei der die Thrombozyten des Kindsvaters (der das immunisierende Antigen an das Kind vererbt haben muss) in die Untersuchung mit einbezogen werden. Die inzwischen entdeckten niedrigfrequenten Alloantigene sind in Tab. 30.2 zu finden.

Antikörper gegen HLA-Klasse-I-Antigene werden von etwa 20–30% aller Schwangeren gebildet. Sie reagieren in vitro stark mit Thrombozyten. Aufgrund von einigen publizierten Einzelfällen, bei denen nur HLA-Klasse-I-Antikörper, nicht aber Antikörper gegen Determinanten auf den Glykoproteinen IIb-IIIa, Ib-IX-V, Ia-IIa, CD109 im Serum der Mutter identifiziert wurden, wurde gefolgert, dass diese Antikörper in seltenen Fällen auch eine NAIT auslösen können. Diese Frage ist zurzeit noch umstritten (Sharon u. Amar 1981, King et al. 1996). Bei den »plättchenspezifischen Alloantikörpern« lösen Antikörper gegen Determinanten auf GP IIb-IIIa häufiger Thrombozytopenien aus, die in der Regel auch schwerer sind, während Anti-HPA-5b eher für milde Verlaufsformen von NAIT verantwortlich ist. Allerdings kann es nach Beobachtungen einer Arbeitsgruppe bei diesen durch Anti-HPA-5b ausgelösten Fällen offenbar auch bei nur geringgradig verminderten Thrombozytenzahlen zu zerebralen Blutungen kommen (Ghevaert et al. 2007).

## Klinische Symptome

Bei Neugeborenen mit einer NAIT werden als häufigste Symptome Petechien und flächenhafte Blutungen der Haut

**Tab. 30.1.** Thrombozytäre Alloantigene

| Antigen | Aminosäuren | Basen | Phänotypfrequenz: a/b [%] |
|---|---|---|---|
| HPA-1a/1b | GP IIIa: Leu33Pro | T176C | Deutschland: 97,5/30,8<br>Japan: >99,7/0,3 |
| HPA-2a/2b | GP Ib(α): Thr145Met | C482T | Deutschland: 99,8/11,8 |
| HPA-3a/3b | GP IIb: Ile843Ser | T2621G | Deutschland: 86,1/62,9 |
| HPA-4a/4b | GP IIIa: Arg143Gln | G506A | Deutschland: >99,9/<0,1<br>Japan: >99,7/1,7 |
| HPA-5a/b | GP Ia-IIa: Glu505Lys | G1600A | Deutschland: 98,8/20,7 |
| HPA-15a/15b | CD109: Ser703Tyr | C2108A | U.K.: 80,5/60,2 |

**Tab. 30.2.** Niedrigfrequente thrombozytäre Alloantigene. (Metcalfe et al. 2007)

| Antigen | Aminosäuren | Basen | Phänotypfrequenz |
|---|---|---|---|
| HPA-6w, Tu(a) | GP IIIa: Arg489Gln | G1544A | 1/150 |
| HPA-7W, Mo(a) | GP IIIa: Pro407Ala | C1297G | 1/450 |
| HPA-8W, Sr(a) | GP IIIa: Arg636Cys | C1984T | 0/794 |
| HPA-9W, Max(a) | GP IIIa: Val837Met | G2602A | 3/500 |
| HPA-10W, La(a) | GP IIIa: Arg62Gln | G263A | 0/100 |
| HPA-11W, Gro(a) | GP IIIa: Arg633His | G1976A | 0/400 |
| HPA-12W, Iy(a) | GP Ib(β): Gly15Glu | G119A | 1/253 |
| HPA-13W, Sit(a) | GP Ia: Thr799Met | C2483T | 1/400 |
| HPA-14W, Oe(a) | GP IIIa: Del611Lys | 1909-1911 DelAAG | 0/600 |
| HPA-16W, Duv(a) | GP IIIa: Ile140Thr | C497T | 0/100 |

beobachtet. Danach folgen (in abnehmender Reihenfolge) Blutungen in den Gastrointestinaltrakt (Melaena, Hämatemesis), Hämoptysen und Hämaturie (Mueller-Eckhardt et al. 1989). Intrakranielle Blutungen wurden in einer Serie von Fällen, die durch Anti-HPA bedingt waren, bei 14% gefunden.

Die zum Zeitpunkt der Geburt erniedrigten Thrombozytenzahlen fallen meist noch innerhalb der ersten 48 h ab. Eine Knochenmarkpunktion lässt in den seltenen Fällen, wo sie durchgeführt wird, eine gesteigerte Thrombozytopoese erkennen. In einem publizierten Fall einer NAIT durch Anti-HPA-2b ging die Thrombozytopenie mit einer Amegakaryozytose einher (Bizzarro u. Dianese 1988).

## Diagnose

Bei jedem klinischen Verdacht einer NAIT sollte eine immunologische Untersuchung veranlasst werden. Ein klinischer Verdacht muss stets dann entstehen, wenn sich eine Thrombozytopenie bei einem Neugeborenen nicht durch andere als immunologische Ursachen erklären lässt.



**! Eine Untersuchung ist nicht nur für die Bewertung und Behandlung der Thrombozytopenie im aktuellen Fall wichtig, sondern sie ist auch erforderlich, um im Falle einer nachgewiesenen mütterlichen Alloimmunisierung das Risiko für eine darauf folgende Schwangerschaft einschätzen zu können.**

## Therapie und Prophylaxe

Nach der Geburt eines Kindes mit einer unerwartet festgestellten Thrombozytopenie, bei der sich andere als immunologische Ursachen nicht finden lassen (keine Hinweise auf eine Infektion, auf eine Sepsis oder eine hereditäre Thrombozytopenie bei eher gutem Allgemeinzustand) und bei normaler Thrombozytenzahl der Wöchnerin besteht der klinische Verdacht auf eine NAIT. Eine Untersuchung auf thrombozytäre Antikörper bei der Mutter sollte veranlasst werden.

Die Therapie der Wahl ist in dieser Situation die Transfusion immunologisch kompatibler Thrombozyten. Sofern diese für ein Neugeborenes mit hoher Gefahr für eine Blutung oder für ein manifest blutendes Neugeborenes nicht innerhalb kurzer Zeit beschafft werden kann, ist die Transfusion eines unausgewählten Thrombozytenkonzentrats eine meist funktionierende Alternative (Kiefel et al. 2006).

Das Vorgehen bei einer Schwangeren mit einer bekannten HPA-1a-Vorimmunisierung gehört zu den komplexesten ärztlichen Problemen im Zusammenhang mit der Diagnostik und Behandlung der NAIT. Die Seltenheit und Bedrohlichkeit der Erkrankung bedingt, dass es hierzu nur Studien mit eingeschränkter Aussagekraft gibt. Zwar gibt es einen lockeren Zusammenhang zwischen Antikörperkonzentration und dem Ausmaß der fetalen Thrombozytopenie und der daraus resultierenden Blutungsneigung. Dennoch ist das Resultat einer semiquantitativen HPA-1a-Bestimmung für die Prognose der Thrombozytopenie bei einzelnen Patienten ungeeignet. Einen gewissen Anhalt gibt lediglich das klinische Bild bei betroffenen älteren Geschwistern und die aktuelle Thrombozytenzahl beim Feten, bestimmt durch eine Blutentnahme im Rahmen einer Kordozentese (Tab. 30.3).

**Tab. 30.3.** Kriterien zur Einschätzung des Risikos einer fetalen intrazerebralen Blutung bei einer HPA-1a-alloimmunisierten Schwangeren (Berkowitz et al. 2006)

| Risiko | Konstellation |
|---|---|
| Extrem hoch | Antenatale intrazerebrale Blutung bei einem älteren Geschwister bei NAIT durch mütterliches Anti-HPA-1a |
| Hoch | Perinatale intrazerebrale Blutung bei einem älteren Geschwister *oder* Thrombozytenzahl $<20\times10^9$/l zu Beginn der Bestimmung fetaler Thrombozytenzahlen |
| Standardrisiko | Keine perinatale intrazerebrale Blutung bei einem betroffenen älteren Geschwister *und* Thrombozytenzahl $>20\times10^9$/l zu Beginn der Bestimmung fetaler Thrombozytenzahlen |

Bei Patienten der höchsten Risikogruppe kann eine Behandlung mit intrauterinen Thrombozytentransfusionen erforderlich sein, die dann aber ausnahmslos in einem mit dem Management der NAIT erfahrenen Zentrum vorgenommen werden sollte. Bei Patienten mit einem hohen Risiko und mit Standardrisiko (Tab. 30.3) werden gegenwärtig wöchentliche mütterliche i.v. IgG-Infusionen (1 g/kgKG mit/ohne Prednison in einer Dosierung von 1 mg/kgKG täglich) etwa ab der 20. Schwangerschaftswoche empfohlen (Berkowitz et al. 2006, Murphy u. Bussel 2007).

In den letzten Jahren werden intrauterine Transfusionen zunehmend kritisch bewertet, da sie aufgrund der kurzen Thrombozytenlebenszeit relativ häufig durchgeführt werden müssen und es wegen der ausgeprägten hämorrhagischen Diathese beim Kind häufig zu Blutungen im Bereich der Punktion mit einem Abort kommt.

**Cave**

Auch in der Hand geübter Therapeuten wird das Blutungsrisiko pro behandelter Schwangerer auf 5,5% geschätzt (Murphy u. Bussel 2007). Es liegt damit im Bereich der Rate spontaner Blutungen bei NAIT durch Anti-HPA-1a (Muller et al. 1985).

### Immunthrombozytopenie in der Schwangerschaft

Bei einer Thrombozytopenie während der Schwangerschaft ist differenzialdiagnostisch neben einem HELLP-Syndrom (▶ Kap. 34.2) oder einer sogenannten schwangerschaftsassoziierten Thrombozytopenie (»gestational thrombocytopenia«, »incidental thrombocytopenia of pregnancy«) auch eine AITP in Erwägung zu ziehen (Samuels et al. 1990). Eine **schwangerschaftsassoziierte Thrombozytopenie** tritt bei ca. 5% der Schwangerschaften im dritten Trimester auf. Sie ist meist mild mit Thrombozytenzahlen über $70\times10^9$/l. Die Patientinnen hatten vor der Schwangerschaft keine Thrombozytopenie, und die Thrombozytopenie verschwindet spontan nach der Geburt. Die schwangerschaftsassoziierte Thrombozytopenie führt nicht zu einer Thrombozytopenie beim Feten und ist nicht behandlungsbedürftig. Ein Problem besteht lediglich in der Abgrenzung gegenüber anderen Zuständen mit einer Thrombozytopenie.

Bei **schwangeren Patientinnen mit Autoimmunthrombozytopenie**, die meist zuvor bekannt war bzw. diagnostiziert wurde, kann es während der Schwangerschaft zum diaplazentaren Transfer von thrombozytären Autoantikörpern auf den Feten kommen, mit dem möglichen Risiko einer fetalen Thrombozytopenie und letztlich einer intrakraniellen Blutung. Grundsätzlich können mütterliche thrombozytäre Autoantikörper bei Feten eine Thrombozytopenie sogar dann auslösen, wenn die Thrombozytenzahl bei der Mutter normal ist.

In einer Serie von 6 Studien über Schwangerschaften bei 427 Patientinnen mit einer AITP lag die Häufigkeit der Neugeborenen mit einer Thrombozytenzahl $<50\times10^9$/l bei 13,5%, zu einer zerebralen Blutung kam es bei 1,1% der Neugeborenen. Der Nachweis von mütterlichen Autoantikörpern (GP-PAIgG) ist geeignet, die Diagnose bei der Mutter zu bestätigen, aber er erlaubt nach gegenwärtiger Kenntnis keine zuverlässige Vorhersage der Thrombozytenzahl beim Feten.

Ähnlich wie bei der NAIT erlaubt auch bei der durch übertragene mütterliche Autoantikörper verursachten Thrombozytopenie des Feten bzw. des Kindes die Schwere der Thrombozytopenie bei einem älteren Geschwister eine annähernde Prognose auf das Ausmaß der Thrombozytopenie bei einem späteren Kind (Christiaens et al. 1997). Das peripartale »Management« der kindlichen Thrombozytopenie schließt bei der Planung des Geburtsmodus ein möglichst schonendes Vorgehen für das Kind ein.

Eine mütterliche Therapie der AITP während der Schwangerschaft ist in ihrer Wirkung auf die Thrombozytopenie beim Feten umstritten, kann aber unmittelbar das mütterliche Blutungsrisiko bei der Entbindung bzw. der Sectio vermindern (Bussel et al. 1991).

**! Nach der Geburt sollte umgehend die Thrombozytenzahl beim Neugeborenen bestimmt werden. Die Thrombozytenzählungen sollten dann – auch bei nahezu normalen Thrombozytenzahlen – in den darauffolgenden 3–4 Tagen fortgesetzt werden (George et al. 1996).**

Grenzwerte der Thrombozytenzahl für eine Therapie (i.v.IgG, ggf. kombiniert mit Kortikosteroiden) beim Neugeborenen ohne intrazerebrale Blutung lassen sich wegen fehlender Daten schlecht begründen. Sie liegen nach Empfehlung eines Expertengremiums zwischen $20\times10^9$/l und $50\times10^9$/l (George et al. 1996).

### Immunthrombozytopenie nach Transfusion und Transplantation

#### Posttransfusionelle Purpura (PTP)

Die posttransfusionelle Purpura ist eine schwere Transfusionsreaktion, die meist Frauen über 50 Jahre betrifft. Durchschnittlich 7 Tage nach einer Transfusion von Blut oder Blutkomponenten tritt eine schwere Immunthrombozytopenie auf. Bereits 1961 erkannten Shulman und Mitarbeiter einen Zusammenhang zwischen einer sekundären Immunantwort gegen Antigene auf dem thrombozytären Glykoproteinkomplex IIb-IIIa und dem Auftreten einer Thrombozytopenie (Shulman et al. 1961). Eine immunologisch induzierte Thrombozytopenie tritt ein, obwohl die autologen Thrombozyten das Alloantigen, gegen das der Antikörper gerichtet ist, nicht tragen.

Die Ursachen für diesen paradoxen Zusammenhang sind immer noch nicht vollständig geklärt. Folgende Hypothesen wurden diskutiert:

- **Anlagerung von Immunkomplexen an autologe Thrombozyten:** Nach der Transfusion von Alloantigen-positiven (meist HPA-1a-positiven) Blutprodukten zirkulieren kleine Mengen von antigenhaltigem Material aus den Thrombozyten im Empfänger. Sobald eine ausreichend hohe Konzentration des Alloantikörpers gebildet wurde, bilden sich Immunkomplexe, die an die autologen Thrombozyten adsorbiert werden und damit ihre beschleunigte Elimination verursachen (Shulman et al. 1961).
- **Adsorption von Glykoprotein aus Spenderthrombozyten an autologe Thrombozyten:** Aus den Thrombozyten der transfundierten Blutprodukte stammendes Antigen-positives Material adsorbiert sich an die autologen Thrombozyten. Mit diesen dann Alloantigen-positiven autologen Thrombozyten reagiert der Alloantikörper, nachdem er sich beim Empfänger in ausreichender Konzentration gebildet hat (Dieleman et al. 1989).
- **Patienten mit PTP bilden kreuzreagierende, pseudospezifische Alloantikörper:** Bei dieser Hypothese wird unterstellt, dass im Rahmen der sekundären Immun-

antwort Alloantikörper entstehen, die zwar in den üblichen Testverfahren zunächst als Alloantikörper imponieren, darüber hinaus aber mit autologen, Alloantigen-negativen Thrombozyten reagieren. Für diese Hypothese spricht, dass man in der thrombozytopenischen Phase in einem von den autologen Thrombozyten hergestellten Eluat den Alloantikörper nachweisen kann (Morrison u. Mollison 1966; Kiefel et al. 2005).

- **Bildung eines Autoantikörpers:** Von den Patienten wird neben dem thrombozytären Alloantikörper ein Autoantikörper gebildet, der für die Elimination der autologen Thrombozyten verantwortlich ist (Stricker et al. 1987; Taaning u. Tonnesen 1999).

**Klinische Symptome.** Während der Transfusion, die die PTP auslöst, kommt es häufig zu febrilen Reaktionen. Nach 6–10 Tagen fällt die Thrombozytenzahl meist abrupt auf Werte unter $10 \times 10^9$/l ab. In der frühen Phase der Thrombozytopenie kann es zu blutungsbedingten Komplikationen, unbehandelt auch zu Todesfällen kommen. Auch in unbehandelten Fällen verschwindet die Thrombozytopenie meist nach einigen Wochen, in einer größeren Serie wurden Thrombozytenzahlen von über $100 \times 10^9$/l im Mittel nach 19,5 Tagen erreicht (Mueller-Eckhardt et al. 1991). In der überwiegenden Zahl der bisher beschriebenen Fälle wurde die PTP durch Vollblut oder Erythrozytenkonzentrate ausgelöst. Anlass für die Transfusion sind meist Blutungen oder Blutverluste im zeitlichen Zusammenhang von operativen Eingriffen. Bei hämatologischen und onkologischen Patienten kommt diese Transfusionsreaktion extrem selten vor.

**Diagnose.** Im Serum ist ein thrombozytärer Alloantikörper gegen Antigen auf dem thrombozytären GP IIb-IIIa nachweisbar, meist Anti-HPA-1a. Bei molekularbiologischer Bestimmung kann man das korrespondierende Antigen auf den autologen Zellen nicht nachweisen.

**Therapie und Prophylaxe.** Die Wirksamkeit hoher Dosen von i.v.IgG (Gesamtdosis von 2 g/kgKG aufgeteilt auf 2 Dosen an 2 Tagen) ist gut belegt (Mueller-Eckhardt et al. 1983; Hamblin et al. 1985; Mueller-Eckhardt u. Kiefel 1988). Nach einer initial wirksamen Behandlung sind Patienten ausreichend lange zu beobachten, da es nach wenigen Tagen zu einem erneuten Abfall der Thrombozytenzahl kommen kann. Kortikosteroide sind nicht ausreichend zuverlässig wirksam, auch Plasmaaustauschbehandlungen sind zugunsten der i.v.IgG-Therapie verlassen worden. Nach Transfusion unausgewählter (in der Regel inkompatibler) Thrombozyten kommt es nicht zu einem Anstieg der Thrombozytenzahl, die Beobachtungen zur Wirksamkeit von Antigen-negativen Thrombozytentranfusionen sind widersprüchlich (Gerstner et al. 1979; Win et al. 1995; Allen et al. 2004).

**! Obwohl in seltenen Einzelfällen eine zweite Episode einer PTP nach Transfusion zu einem späteren Zeitpunkt beobachtet wurde, sollten akut benötigte Erythrozytenkonzentrate Patienten mit einer PTP in der Vorgeschichte im Bedarfsfall nicht vorenthalten werden.**

Die Bedingungen, unter denen es zu erneuter PTP bei Transfusionen zu einem späteren Zeitpunkt kommt, sind nicht geklärt.

### Passive alloimmune Thrombozytopenie

Durch Übertragung von Blutprodukten, deren Plasma einen thrombozytären Alloantikörper enthält, kann beim Empfänger eine passive alloimmune Immunthrombozytopenie ausgelöst werden. Bei den durch Anti-HPA-1a verursachten Fällen wurden Thrombozytenzahlen beim Empfänger zwischen $1 \times 10^9$/l und $11 \times 10^9$/l gemessen (Ballem et al. 1987; Brunner-Bollinger et al. 1997; Scott et al. 1988). Bei einem durch Anti-HPA-5b verursachten Fall betrug die niedrigste Thrombozytenzahl $35 \times 10^9$/l (Warkentin et al. 1992).

Im Unterschied zur PTP tritt die Thrombozytopenie unmittelbar nach Transfusion auf. Wie die Thrombozytopenie bei der PTP ist sie zeitlich begrenzt. Über Beobachtungen einer Thrombozytopenie nach Blutprodukten sollte der Hersteller der Präparate informiert werden, damit die (meist weiblichen) Spender solcher Produkte von Blutspenden ausgeschlossen werden können.

### Immunthrombozytopenie nach Transplantation hämatopoetischer Stammzellen und nach Transplantation solider Organe

Nach Transplantation hämatopoetischer Stammzellen kann die Thrombozytopenie zunächst länger als üblich persistieren. Bei einigen der bisher publizierten Fälle sprechen nachweisbare thrombozytäre Autoantikörper und Hinweise auf einen beschleunigten Thrombozytenumsatz dafür, dass ein AITP-ähnliches Bild vorliegen kann (Macher et al. 2005; Benda et al. 1989; Bierling et al. 1985; Anasetti et al. 1989).

Nach hämatopoetischen Stammzelltransplantationen sind Immunthrombozytopenien dann beobachtet worden, wenn vom Empfänger stammende persistierende B-Zellklone einen Alloantikörper bilden und damit eine Immunreaktion gegen die Thrombozyten vom Spender induzieren (Panzer et al. 1989; Macher et al. 2005; Bierling et al. 1994).

Die umgekehrte Konstellation wurde bei Transplantation von Organen eines Organspenders mit einem HPA-1a-Antikörper beobachtet. Die Empfänger entwickelten extrem schwere Immunthrombozytopenien, weil ihnen mit den Organen im Rahmen eines »passenger lymphocyte«-Syndroms Lymphozyten vom Spender übertragen worden waren (West et al. 1999).

### Weitere Wirkungen thrombozytärer Autoantikörper

Bei den meisten Patienten mit einer AITP, die sehr niedrige Thrombozytenzahlen aufweisen, deutet die oft überraschend geringe Ausprägung der beobachteten Blutungsneigung darauf hin, dass die thrombozytären Autoantikörper bei den zirkulierenden Thrombozyten – wenn überhaupt – nur eine geringe Hemmung ihrer Funktionen bewirken. In seltenen Fällen können thrombozytäre Autoantikörper gegen den GP-IIb-IIIa-Komplex eine ausgeprägte Thrombozytenfunktionsstörung im Sinne einer **erworbenen Thrombasthenie** bei normalen oder diskret verminderten Thrombozytenzahlen induzieren (Niessner et al. 1986).

Bei der ersten, von Niessner und Mitarbeitern beschriebenen Patientin wurde ein Antikörper gegen den GP IIb-IIIa nachgewiesen, der zu einer verlängerten Blutungszeit führte und in der Thrombozytenfunktionstestung eine Störung der ADP- und kollageninduzierten Aggregation zeigte. Die Expression der thrombozytären Glykoproteine wies keine Auffälligkeiten auf. Bei einigen später publizierten Patienten wechselten sich Phasen einer Thrombozytenfunktionsstörung mit einer Thrombozytopenie ab (Tholouli et al. 2004). Bei einigen der publizierten Fälle wiesen Patienten auch Non-Hodgkin-Lymphome oder andere maligne Erkrankungen auf.

Zur Diagnose tragen neben der erworbenen Thrombozytenfunktionsstörung ein positiver Nachweis von Antikörpern gegen GP IIb-IIIa auf den autologen Thrombozyten bei. Die funktionshemmende Eigenschaft des Autoantikörpers kann in Eluaten von autologen Thrombozyten und teilweise im Serum der Patienten bei Aggregationsuntersuchungen mit gesunden Spenderthrombozyten nachgewiesen werden.

Autoantikörper gegen das thrombozytäre Glykoprotein VI führen zu einer Thrombozytopenie und zu thrombozytären Funktionsstörungen bei betroffenen Patienten (Sugiyama et al. 1987; Moroi et al. 1989). Dabei bewirken die Antikörper offenbar eine Immundepletion des GP-VI-FcR(γ)-Komplexes von den Thrombozyten. Die Thrombozyten betroffener Patienten sind dann in vitro nicht mehr durch Kollagen stimulierbar (Boylan et al. 2004).

## 30.2.4 Medikamenteninduzierte Immunthrombozytopenie

Grundsätzlich können alle Medikamente, die die Hämatopoese beeinträchtigen, eine Thrombozytopenie bewirken. Medikamente können auch über unterschiedliche immunologische Mechanismen eine Thrombozytopenie induzieren. So ist bekannt, dass Goldpräparate eine Immunthrombozytopenie auslösen können, die der einer Autoimmunthrombozytopenie ähnelt (von dem Borne et al. 1986). Sie wird durch Autoantikörper vermittelt, die teilweise mit dem thrombozytären Glykoprotein V reagieren (Garner et al. 2002). Diese Autoantikörper reagieren bei einer »normalen« AITP mit ihrem thrombozytären Antigen unabhängig davon, ob sich das Medikament im Reaktionsmedium befindet oder nicht. Sie unterscheiden sich damit von den unten besprochenen medikamentabhängigen Antikörpern.

Häufiger als andere Medikamente ist Heparin an der immunologisch vermittelten Auslösung einer Aktivierung von Thrombozyten und eines prothrombotischen Zustands beteiligt, der auch mit einer Thrombozytopenie einhergeht (► Kap. 31.1.3). Auch GP-IIb-IIIa-Rezeptorantagonisten lösen gelegentlich eine immunologisch vermittelte Thrombozytopenie aus.

### Medikamentabhängige Antikörper

Als Prototyp einer durch medikamentabhängige Antikörper (»drug dependent antibodies«; ddab) ausgelösten Immunthrombozytopenie kann die durch Chinin oder Chinidin induzierte Immunthrombozytopenie gelten. Bei dieser Form der medikamenteninduzierten Immunthrombozytopenie (MIT) kommt es nach einer ersten Einnahme des Medikaments zu einer Thrombozytopenie mit meist sehr niedrigen Thrombozytenzahlen (Shulman u. Jordan 1987). Wenn bereits immunisierte Patienten diese Substanz erneut einnehmen, kann es zu einem raschen Abfall der Thrombozytenzahl kommen.

> **Cave**
>
> Da Fälle von MIT mit einer ausgeprägten Blutungsneigung einhergehen können, ist von Reexpositionsversuchen aus diagnostischen Gründen dringend abzuraten.

Die zugrunde liegenden medikamentabhängigen Antikörper reagieren in vitro (und sehr wahrscheinlich auch in vivo) nur in Gegenwart des Medikaments mit thrombozytären Membranglykoproteinen. Das Spektrum der thrombozytären Zielantigene ähnelt dem thrombozytärer Autoantikörper bei Patienten mit einer AITP, meist sind sie gegen GP Ib-X oder IIb-IIIa gerichtet.

Inzwischen wurde eine Fülle von Substanzen verdächtigt, eine dem Chinin-/Chinidintyp entsprechende MIT auszulösen (George et al. 2006). Im eigenen Labor wurden in MIT-Verdachtsfällen von folgenden Substanzen abhängige Antikörper nachgewiesen (in abnehmender Reihenfolge der Häufigkeit): Chinidin, Trimethoprim/Sulfamethoxazol, Diclofenac, Rifampicin, Carbamazepin, Chinin, Ibuprofen, Nomifensin (nicht mehr im Handel), Paracetamol, Ranitidin, Vancomycin.

Manchmal ist es nicht das Medikament selbst, sondern einer seiner Metaboliten, der die MIT auslöst. Im eigenen

Untersuchungsmaterial war dies bei Immunthrombozytopenien der Fall, die durch Sulfamethoxazol, Paracetamol und Ibuprofen ausgelöst wurden.

Typische medikamentabhängige Antikörper weisen eine Bindung an die Struktur der Thrombozytenmembran auf, solange sich das Medikament (ggf. Metabolite) im Reaktionsmedium befindet. Die Bindung löst sich jedoch, wenn das Medikament aus dem Medium entfernt wird. Diese Eigenschaften sind beim Nachweis dieser Antikörper, der meist sehr aufwendig ist, zu berücksichtigen (▶ Kap. 60). Einzelheiten des Reaktionsmechanismus sind immer noch weitgehend unklar.

Sofern ein medikamentabhängiger Antikörper nachgewiesen wurde, sollte der Patient darüber unterrichtet werden, dass entsprechende Medikamente, die die auslösende Substanz enthalten, nicht mehr eingenommen werden dürfen. Die wichtigste Maßnahme bei einer MIT ist das Absetzen des Medikaments, weitere therapeutische Optionen sind nicht untersucht worden. Bei bedrohlichen Blutungen kann man notfalls große Dosen von Thrombozyten transfundieren.



### Immunthrombozytopenie bei GP-IIb-IIIa-Inhibitoren

Im Rahmen kardiologischer Interventionen werden häufig GP-IIb-IIIa-Inhibitoren zur Vermeidung thrombotischer Komplikationen eingesetzt. Von diesen Substanzen induziert besonders häufig Abciximab (ReoPro) eine vermutlich immunologisch induzierte Thrombozytopenie: in etwa 0,7% der Fälle nach Erstexposition und bei 4,6% aller Patienten nach wiederholter Medikamentengabe (Jubelirer et al. 1999; Tcheng et al. 2001). Die Thrombozytopenie tritt auch bei Erstexposition typischerweise innerhalb der ersten 24 h ein, oft sogar schon innerhalb der ersten 4 h, was dafür spricht, dass präformierte Antikörper die Thrombozytopenie auslösen. Auch nach eigenen Beobachtungen ist eine Bestimmung von Antikörpern, die mit Abciximab beladenen Thrombozyten reagieren, diagnostisch nicht brauchbar, da solche Antikörper bei Gesunden in einem hohen Prozentsatz nachweisbar sind (Curtis et al. 2002).

> **! Bei der Bewertung von Thrombozytenzahlen bei betroffenen Patienten ist zu berücksichtigen, dass nach Abciximab häufig Pseudothrombozytopenien auftreten, nach den Untersuchungen von Schell und Mitarbeitern in etwa 27% der Fälle.**

In den seltenen Fällen, bei denen eine Therapie notwendig erscheint, können Thrombozyten transfundiert werden. Die Gabe von i.v.IgG ist dagegen nicht ausreichend wirksam (Kereiakes et al. 1996). Bei der immunologischen Untersuchung von Patienten auf thrombozytäre Autoantikörper mit Verdacht auf eine AITP ist bei Messung von IgG auf dem GP-Komplex IIb-IIIa autologer Thrombozyten mit einem hohem Prozentsatz (falsch) positiver Befunde zu rechnen, wenn Patienten zuvor Abciximab erhalten haben.

Akute immunologisch vermittelte Thrombozytopenien sind auch bei Patienten nach Behandlung mit den GP-IIb-IIIa-Inhibitoren Tirofiban (Aggrastat) und Eptifibatid (Integrelin) beobachtet worden. Bei den betroffenen Patienten konnten medikamentabhängige Antikörper nachgewiesen werden, die nur in Gegenwart des Medikaments mit Testthrombozyten reagierten (Bougie et al. 2002). Diese Antikörper reagierten nicht mit Thrombozyten, die mit Abciximab beladen worden waren. In Einzelfällen konnten die Antikörper vor der ersten Medikamentgabe nachgewiesen werden.

## Literatur


Allen DL, Samol J, Benjamin S, Verjee S, Tusold A, Murphy MF (2004) Survey of the use and clinical effectiveness of HPA-1a/5b-negative platelet concentrates in proven or suspected platelet alloimmunization. Transfus Med 14: 409–417

Anasetti C, Rybka W, Sullivan KM, Banaji M, Slichter SJ (1989) Graft-v-host disease is associated with autoimmune-like thrombocytopenia. Blood 73: 1054–1058

Andersen JC (1994) Response of resistant idiopathic thrombocytopenic purpura to pulsed high-dose dexamethason therapy. N Engl J Med 330: 1560–1564

Arnold DM, Dentali F, Crowther MA, Meyer RM, Cook RJ, Sigouin C, Fraser GA, Lim W, Kelton JG (2007) Systematic review: efficacy and safety of rituximab for adults with idiopathic thrombocytopenic purpura. Ann Intern Med 146: 25–33

Ballem PJ, Buskard NA, Decary F, Doubroff P (1987) Post-transfusion purpura secondary to passive transfer of anti-Pl(A1) by blood transfusion. Br J Haematol 66: 113–114

Ballmaier M, Germeshausen M, Schulze H, Cherkaoui K, Lang S, Gaudig A, Krukemeier S, Eilers M, Strauss G, Welte K (2001) c-mpl mutations are the cause of congenital amegakaryocytic thrombocytopenia. Blood 97: 139–146

Barnes C, Blanchette V, Canning P, Carcao M (2005) Recombinant FVIIa in the management of intracerebral haemorrhage in severe thrombocytopenia unresponsive to platelet-enhancing treatment. Transfus Med 15: 145–150

Benda H, Panzer S, Kiefel V, Mannhalter C, Hinterberger W, Lechner K, Mueller-Eckhardt C (1989) Identification of the target platelet glycoprotein in autoimmune thrombocytopenia occurring after allogeneic bone marrow transplantation. Blut 58: 151–153

Berkowitz RL, Kolb EA, McFarland JG, Wissert M, Primani A, Lesser M, Bussel JB (2006) Parallel randomized trials of risk-based therapy for fetal alloimmune thrombocytopenia. Obstet Gynecol 107: 91–96

Bierling P, Cordonnier C, Fromont P, Rodet M, Tanzer J, Vernant JP, Bracq C, Duedari N (1985) Acquired autoimmune thrombocytopenia after allogeneic bone marrow transplantation. Br J Haematol 59: 643–646

Bierling P, Pignon JM, Kuentz M, Mitjavila MT, Fromont P, Barbu V, Goossens M, Duedari N, Vainchenker W, Vernant JP (1994) Thrombocytopenia after bone marrow transplantation caused by a recipient origin Br(a) allo-antibody: presence of mixed chimerism 3 years after the graft without hematological relapse. Blood 83: 274–279

Bizzarro N, Dianese G (1988) Neonatal alloimmune amegakaryocytosis. Case report. Vox Sang 54: 112–114

Bolton-Maggs PH, Chalmers EA, Collins PW et al. (2006) A review of inherited platelet disorders with guidelines for their management on behalf of the UKHCDO. Br J Haematol 135: 603–633

Bougie DW, Wilker PR, Wuitschick ED, Curtis BR, Malik M, Levine S, Lind RN, Pereira J, Aster RH (2002) Acute thrombocytopenia after treatment with tirofiban or eptifibatide is associated with antibodies specific for ligand-occupied GPIIb/IIIa. Blood 100: 2071–2076

Boylan B, Chen H, Rathore V et al. (2004) Anti-GPVI-associated ITP: An acquired platelet disorder caused by autoantibody-mediated clearance of the GPVI/FcR(gamma)-chain complex from the human platelet surface. Blood 104: 1350–1355

British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force (2003) Guidelines for the use of platelet transfusions. Br J Haematol 122: 10–23

Brunner-Bollinger S, Kiefel V, Horber FF, Nydegger UE, Berchtold P (1997) Antibody studies in a patient with acute thrombocytopenia following infusion of plasma containing anti-Pl(A1). Am J Hematol 56: 119–121

Bussel J, Kaplan C, McFarland J (1991) Recommendations for the evaluation and treatment of neonatal autoimmune and alloimmune thrombocytopenia. Thromb Haemost 65: 631–634

Christiaens GCML, Nieuwenhuis HK, Bussel JB (1997) Comparison of platelet counts in first and second newborns of mothers with immune thrombocytopenic purpura. Obstet Gynecol 90: 546–552

Culic S (2003) Recombinant factor VIIa for refractive haemorrhage in autoimmune idiopathic thrombocytopenic purpura [letter]. Br J Haematol 120: 909–910

Curtis BR, Swyers J, Divgi A, McFarland JG, Aster RH (2002) Thrombocytopenia after second exposure to abciximab is caused by antibodies that recognize abciximab-coated platelets. Blood 99: 2054–2059

d'Apolito M, Zelante L, Savoia A (1998) Molecular basis of Fanconi anemia. Haematologica 83: 533–542

Derry JMJ, Ochs HD, Francke U (1994) Isolation of a novel gene mutated in Wiskott-Aldrich syndrome, Wiskott-Aldrich syndrome protein (WASP). Cell 78: 635–644

Dieleman LA, Brand A, Claas FHJ, van de Keur C, Witvliet M, Giphart MJ (1989) Acquired Zw(a) antigen on Zw(a) negative platelets demonstrated by Western blotting. Br J Haematol 72: 539–542

Frederiksen H, Schmidt K (1999) The incidence of idiopathic thrombocytopenic purpura in adults increases with age. Blood 94: 909–913

Garner SF, Campbell K, Metcalfe P, Keidan J, Huiskes E, Dong JF, Lopez JA, Ouwehand WH (2002) Glycoprotein V: the predominant target antigen in gold-induced autoimmune thrombocytopenia. Blood 100: 344–346

George JN, Woolf SH, Raskob GE et al. (1996) Idiopathic thrombocytopenic purpura: a practice guideline developed by explicit methods for the American Society of Hematology. Blood 88: 3–40

George JN (2001) Platelet kinetics and pathophysiology of thrombocytopenia. In Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Clowes AW, George JN (eds.) Hemostasis and thrombosis. Basic principles and clinical practice, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, pp 576–596

George JN, Chong B, Li X (2006) Drug-induced thrombocytopenia. In Colman EW, Marder VJ, Clowes AW, George JN, Goldhaber SZ (eds.) Hemostasis and thrombosis, 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, pp 1095–1102

Gerstner JB, Smith MJ, Davis KD, Cimo PL, Aster RH (1979) Posttransfusion purpura: therapeutic failure of Pl(A1)-negative platelet transfusion. Am J Hematol 6: 71–75

Ghevaert C, Campbell K, Walton J, Smith GA, Allen D, Williamson LM, Ouwehand WH, Ranasinghe E (2007) Management and outcome of 200 cases of fetomaternal alloimmune thrombocytopenia. Transfusion 47: 901–910

Greenhalgh KL, Howell RT, Bottani A et al. (2002) Thrombocytopenia-absent radius syndrome: a clinical genetic study. J Med Genet 39: 876–881

Greinacher A, Kiefel V, Klüter H, Kroll H, Pötzsch B, Riess H (2006) Empfehlungen zur Thrombozytentransfusion der Thrombozyten-Arbeitsgruppe der DGTI, GTH und DGHO. Transfusion Med Hemother 33: 528–543

Hall GW (2001) Kasabach-Merritt syndrome: pathogenesis and management. Br J Haematol 112: 851–862

Hamblin TJ, Naorose Abidi SM, Nee PA, Copplestone A, Mufti GJ, Oscier DG (1985) Successful treatment of post-transfusion purpura with high dose immunoglobulins after lack of response to plasma exchange. Vox Sang 49: 164–167

Harrington WJ, Minnich V, Hollingsworth JW, Moore CV (1951) Demonstration of a thrombocytopenic factor in the blood of patients with thrombocytopenic purpura. J Lab Clin Med 38: 1–10

Joenje H, Patel KJ (2001) The emerging genetic and molecular basis of Fanconi anaemia. Nat Rev Genet 2: 446–457

Jubelirer SJ, Koenig BA, Bates MC (1999) Acute profound thrombocytopenia following C7E3 Fab (Abciximab) therapy: case reports, review of the literature and implications for therapy. Am J Hematol 61: 205–208

Kereiakes DJ, Essell JH, Abbottsmith CW, Broderick TM, Runyon JP (1996) Abciximab-associated profound thrombocytopenia: therapy with immunoglobulin and platelet transfusion. Am J Cardiol 78: 1161–1163

Kiefel V, Freitag E, Kroll H, Santoso S, Mueller-Eckhardt C (1996) Platelet autoantibodies (IgG, IgM, IgA) against glycoproteins IIb/IIIa and Ib/IX in patients with thrombocytopenia. Ann Hematol 72: 280–285

Kiefel V, Schönberner-Richter I, Schilf K (2005) Anti-HPA-1a in a case of post-transfusion purpura: binding to antigen-negative platelets detected by adsorption/elution. Transfus Med 15: 243–247

Kiefel V, Bassler D, Kroll H, Paes B, Giers G, Ditomasso J, Alber H, Berns M, Wiebe B, Quenzel EM, Hoch J, Greinacher A (2006) Antigen-positive platelet transfusion in neonatal alloimmune thrombocytopenia (NAIT). Blood 107: 3761–3763

King KE, Kao KJ, Bray PF, Casella JF, Blakemore K, Callan NA, Kennedy SD, Kickler TS (1996) The role of HLA antibodies in neonatal thrombocytopenia: a prospective study. Tissue Antigens 47: 206–211

King S, Germeshausen M, Strauss G, Welte K, Ballmaier M (2005) Congenital amegakaryocytic thrombocytopenia: a retrospective clinical analysis of 20 patients. Br J Haematol 131: 636–644

Klopocki E, Schulze H, Strauss G et al. (2007) Complex inheritance pattern resembling autosomal recessive inheritance involving a microdeletion in thrombocytopenia-absent radius syndrome. Am J Hum Genet 80: 232–240

Kojouri K, Vesely SK, Terrell DR, George JN (2004) Splenectomy for adult patients with idiopathic thrombocytopenic purpura: a systematic review to assess long-term platelet count responses, prediction of response, and surgical complications. Blood 104: 2623–2634

Kosugi S, Tomiyama Y, Shiraga M, Kashiwagi H, Nakao H, Kanayama Y, Kurata Y, Matzuzawa Y (1994) Cyclic thrombocytopenia associated with IgM anti-GPIIb-IIIa autoantibodies. Br J Haematol 88: 809–815

Kuter DJ (1998) Thrombopoietins and thrombopoiesis: a clinical perspective. Vox Sang 74 (Suppl. 2): 75–85

Macher S, Schallmoser K, Staber PB, Neumeister P, Posch U, Lanzer G, Panzer S (2005) Severe thrombocytopenia due to host-derived anti-HPA-1a after non-myeloablative allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for multiple myeloma: a case report. Vox Sang 89: 257–260

Menitove JE, Pereira J, Hoffman R, Anderson T, Fried W, Aster RH (1989) Cyclic thrombocytopenia of apparent autoimmune etiology. Blood 73: 1561–1569

Metcalfe P, Watkins N, Robinson J, Marsh SGE (2007) IPD – The Immuno Polymorphism Database 2007. http://www.ebi.ac.uk/ipd/hpa/, accessed July 15th 2007

Meyer O, Kiesewetter H, Hermsen M, Petriedes P, Rose M, Seibt H, Salama A (2006) Replacement of intravenous administration of anti-D by subcutaneous administration in patients with autoimmune thrombocytopenia. Pediatr blood cancer 47: 721–722

Moroi M, Jung SM, Okuma M, Shinmyozu K (1989) A patient with platelets deficient in glycoprotein VI that lack both collagen-induced aggregation and adhesion. J Clin Invest 84: 1440–1445

Morrison FS, Mollison PL (1966) Post-transfusion purpura. N Engl J Med 275: 243–248

Mueller-Eckhardt C, Küenzlen E, Thilo-Körner D, Pralle H (1983) High-dose intravenous immunoglobulin for post-transfusion purpura [letter]. N Engl J Med 308: 287

Mueller-Eckhardt C, Kiefel V (1988) High-dose IgG for post-transfusion purpura – revisited. Blut 57: 163–167

Mueller-Eckhardt C, Kiefel V, Grubert A, Kroll H, Weisheit M, Schmidt S, Mueller-Eckhardt G, Santoso S (1989) 348 cases of suspected neonatal alloimmune thrombocytopenia. Lancet i: 363–366

Mueller-Eckhardt C, Kroll H, Kiefel V (1991) Posttransfusion purpura. In: Kaplan-Gouet C, Schlegel N, Salmon C, McGregor J (eds.) Platelet immunology: fundamental and clinical aspects. Paris: John Libbey Eurotext, pp 249–255

Muller JY, Reznikoff-Etievant MF, Patereau C, Dangu C, Chesnel N (1985) Thrombopénies néo-natales allo-immunes. Étude clinique et biologique de 84 cas. Presse Med 14: 83–86

Murphy MF, Bussel JB (2007) Advances in the management of alloimmune thrombocytopenia. Br J Haematol 136: 366–378

Neylon AJ, Saunders PW, Howard MR, Proctor SJ, Taylor PR (2003) Clinically significant newly presenting autoimmune thrombocytopenic purpura in adults: a prospective study of a population-based cohort of 245 patients. Br J Haematol 122: 966–974

Niessner H, Clemetson KJ, Panzer S, Mueller-Eckhardt C, Santoso S, Bettelheim P (1986) Acquired thrombasthenia due to GP IIb/IIIa-specific autoantibodies. Blood 68: 571–576

Panzer S, Kiefel V, Bartram CR, Haas OA, Hinterberger W, Mueller-Eckhardt C, Lechner K (1989) Immune thrombocytopenia more than a year after allogeneic marrow transplantation due to antibodies against donor platelets with anti-Pl(A1) specificity: evidence for a host-derived immune reaction. Br J Haematol 71: 259–264

Quiquandon I, Fenaux P, Caulier MT, Pagniez D, Huart JJ, Bauters F (1990) Re-evaluation of the role of azathioprine in the treatment of adult chronic idiopathic thrombocytopenic purpura: a report of 53 cases. Br J Haematol 74: 223–228

Reiner A, Gernsheimer T, Slichter SJ (1995) pulse cyclophosphamide therapy for refractory autoimmune thrombocytopenic purpura. Blood 85: 351–358

Rice L, Nichol JL, McMillan R, Roskos LK, Bacile M (2001) Cyclic immune thrombocytopenia responsive to thrombopoietic growth factor therapy. Am J Hematol 68: 210–214

Rios R, Sangro B, Herrero I, Quiroga J, Prieto J (2005) The role of thrombopoietin in the thrombocytopenia of patients with liver cirrhosis. Am J Gastroenterol 100: 1311–1316

Samuels P, Bussel JB, Braitman LE, Tomaski A, Druzin ML, Mennuti MT, Cines DB (1990) Estimation of the risk of thrombocytopenia in the offspring of pregnant women with presumed immune thrombocytopenic purpura. N Engl J Med 323: 229–235

Schell DA, Ganti AK, Levitt R, Potti A (2002) Thrombocytopenia associated with c7E3 Fab (abciximab). Ann Hematol 81: 76–79

Scott EP, Moilan-Bergeland J, Dalmasso AP (1988) Posttransfusion thrombocytopenia associated with passive transfusion of a platelet-specific antibody. Transfusion 28: 73–76

Sharon R, Amar A (1981) Maternal anti-HLA antibodies and neonatal thrombocytopenia. Lancet i: 1313

Shulman NR, Aster RH, Leithner A, Hiller MC (1961) Immunoreactions involving platelets. V. Post-transfusion purpura due to a complement-fixing antibody against a genetically controlled platelet antigen. A proposed mechanism for thrombocytopenia and its relevance in »autoimmunity«. J Clin Invest 40: 1597–1620

Shulman NR, Marder VJ, Weinrach RS (1965) Similarities between known antiplatelet antibodies and the factor responsible for thrombocytopenia in idiopathic purpura. Physiologic, serologic and isotopic studies. Ann NY Acad Sci 124: 499–542

Shulman NR, Jordan JV (1987) Platelet immunology. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW (eds.) Hemostasis and thrombosis. Basic principles and practice. Philadelphia: Lippincott, pp 452–529

Stricker RB, Lewis BH, Corash L, Shuman MA (1987) Posttransfusion purpura associated with an autoantibody directed against a previously undefined platelet antigen. Blood 69: 1458–1463

Sugiyama T, Okuma M, Ushikubi F, Sensaki S, Kanaji K, Uchino H (1987) A novel platelet aggregating factor found in a patient with defective collagen-induced platelet aggregation and autoimmune thrombocytopenia. Blood 69: 1712–1720

Sullivan KE, Mullen CA, Blaese RM, Winkelstein JA (1994) A multiinstitutional survey of the Wiskott-Aldrich syndrome. J Pediatr 125: 876–885

Taaning E, Tonnesen F (1999) Pan-reactive platelet antibodies in post-transfusion purpura. Vox Sang 76: 120–123

Tcheng JE, Kereiakes DJ, Lincoff AM et al. (2001) Abciximab readministration: results of the ReoPro Readministration Registry. Circulation 104: 870–875

Tholouli E, Hay CR, O'Gorman P, Makris M (2004) Acquired Glanzmann's thrombasthenia without thrombocytopenia: a severe acquired autoimmune bleeding disorder. Br J Haematol 127: 209–213

Thompson AA, Nguyen LT (2000) Amegakaryocytic thrombocytopenia and radio-ulnar synostosis are associated with HOXA11 mutation. Nat Genet 26: 397–398

Thompson AA, Woodruff K, Feig SA, Nguyen LT, Schanen NC (2001) Congenital thrombocytopenia and radio-ulnar synostosis: a new familial syndrome. Br J Haematol 113: 866–870

Tomer A, Schreiber AD, McMillan R, Cines DB, Burstein SA, Thiessen AR, Harker LA (1989) Menstrual cyclic thrombocytopenia. Br J Haematol 71: 519–524

von dem Borne AEGK, Pegels JG, van der Stadt RJ, van der Plas-van Dalen CM, Helmerhorst FM (1986) Thrombocytopenia associated with gold therapy: a drug-induced autoimmune disease. Br J Haematol 63: 509–516

Warkentin TE, Smith JW, Hayward CPM, Ali AM, Kelton JG (1992) Thrombocytopenia caused by passive transfusion of anti-glycoprotein Ia/IIa alloantibody (anti-HPA-5b). Blood 79: 2480–2484

West KA, Anderson DR, McAlister VC, Hewlett TJ, Belitsky P, Smith JW, Kelton JG (1999) Alloimmune thrombocytopenia after organ transplantation. N Engl J Med 341: 1504–1507

Williamson LM, Hackett G, Rennie J, Palmer CR, Maciver C, Hadfield R, Hughes D, Jobson S, Ouwehand W (1998) The natural history of fetomaternal alloimmunization to the platelet-specific antigen HPA-1a (Pl(A1), Zw(a) as determined by antenatal screening. Blood 92: 2280–2287

Win N, Peterkin MA, Watson WH (1995) The therapeutic value of HPA-1a negative platelet transfusion in post-transfusion purpura complicated by life threatening haemorrhage. Vox Sang 39: 138–139

Zhu Q, Watanabe C, Liu T, Hollenbaugh D, Blaese RM, Kanner SB, Aruffo A, Ochs HD (1997) Wiskott-Aldrich syndrome/X-linked thrombocytopenia: WASP gene mutations, protein expression, and phenotype. Blood 90: 2680–2689

## 30.3 Thrombozytopathien

*K. Selleng, A. Greinacher*

### Einleitung

Eine Störung der primären Hämostase kann auftreten, wenn die Thrombozytenzahl vermindert ist (Thrombozytopenie), die Thrombozytenfunktion bei normaler Thrombozytenzahl beeinträchtigt ist (Thrombozytopathie) oder beides kombiniert auftritt (Tab. 30.4).

Der Normwert für Thrombozyten liegt zwischen 140 und 450 Gpt/l. Werte über 50 Gpt/l sind bei normaler Funktion der Thrombozyten in der Regel für die Blutstillung ausreichend. Bei Thrombozytenzahlen unter 20 Gpt/l steigt das Risiko für spontane Blutungen. Typisch sind mittelgroße Hämatome an den Extremitäten und, v. a. bei akuter Thrombozytopenie, punktförmige Haut- und Schleimhautblutungen (Petechien). Bei Thrombozytopathien können trotz Thrombozytenzahlen über 50 Gpt/l typische thrombozytäre Blutungen bereits spontan auftreten oder im Zusammenhang mit einer Verletzung bzw. mit operativen Eingriffen (Zahnextraktion, Tonsillektomie).

Erworbene Störungen der Thrombozytenfunktion sind viel häufiger als angeborene Ursachen. Dabei sind medikamenteninduzierte Thrombozytopathien sehr viel häufiger als durch Systemerkrankungen, wie z. B. der Urämie, Knochenmarkerkrankungen, Amyloidose, ausgelöste und erworbene Thrombozytopathien.

Angeborene Thrombozytopathien wie Storage-Pool-Erkrankungen oder Glykoprotein-Rezeptor-Defekte (z. B. Glanzmann-Thrombasthenie) sind selten. Eine kombinierte Thrombozytopenie und -pathie liegt z. B. beim myelodysplastischen Syndrom, teilweise bei den MYH-9-Mutationen, dem Gray-Platelet-Syndrom oder dem Bernard-Soulier-Syndrom vor. Eine Sonderstellung nehmen antikörperinduzierte Thrombozytopathien ein.

**Tab. 30.4.** Thrombozytenfunktionsstörungen

| Thrombozytopenie | Thrombozytopathie | Thrombozytopenie und -pathie |
|---|---|---|
| **Erworben** | | |
| – Autoimmunthrombozytopenie (ITP; ► Kap. 30.2)<br>– medikamenteninduzierte Thrombozytopenie (DITP; ► Kap. 30.2)<br>– posttransfusionelle Purpura (PTP; ► Kap. 30.2)<br>– thrombotisch-thrombozytopenische Purpura (TTP; ► Kap. 34.1) | – Medikamentassoziierte Thrombozytopathie, z. B. ASS, nichtsteroidale Antiphlogistika, ADP-Rezeptor-Antagonisten wie Clopidogrel, Serotonin-Wiederaufnahmeinhibitoren<br>– GP-IIb-IIIa-Antagonisten<br>– Urämie (► Kap. 30.9) | – Myeloproliferative Erkrankungen (► Kap. 34.4)<br>– chronische Leberkrankheiten (► Kap. 30.9)<br>– Leberzirrhose (► Kap. 30.9)<br>– hochgradige Aortenklappenstenose<br>– (erworbene Von-Willebrand-Erkrankung; ► Kap. 30.6 u. 30.7)<br>– disseminierte intravasale Koagulopathie (► Kap. 34.3) |
| **Angeboren** | | |
| – Hereditäre Makrothrombozytopenien, z. B. MYH9-assoziiert | – Thrombasthenie Glanzmann<br>– GP-VI-Mangel<br>– ADP-Rezeptor-Defekte<br>– Storage-Pool-Erkrankungen (Hermansky-Pudlak-Syndrom, Chediak-Higashi-Syndrom)<br>– Scott-Syndrom<br>– Stormorken-Syndrom<br>– Von-Willebrand-Plättchentyp | – Bernard-Soulier-Syndrom<br>– Wiskott-Aldrich-Syndrom<br>– Gray-Platelet-Syndrom<br>– Jacobson/Paris-Trousseau-Syndrom |

## Pathophysiologie

Einer oder mehrere der Aktivierungsschritte, die zur Thrombozytenaggregation führen, können von einer Störung betroffen sein. In den meisten Fällen führt dies zu einer Einschränkung der Thrombozytenfunktion und damit zur Blutungsneigung, in seltenen Fällen auch zu einer gesteigerten Thrombozytenaktivierung mit dem Risiko neuer Gefäßverschlüsse, wie z. B. beim Plättchentyp der Von-Willebrand-Erkrankung.

### Störung der Thrombozytenadhäsion

Die Adhäsion der Thrombozyten wird v. a. über die Kollagenrezeptoren GP VI und GP Ia-IIa und den Von-Willebrand-Rezeptor (vW-Rezeptor) GP Ib-IX vermittelt, mit geringerer Bedeutung auch über den Fibrinogenrezeptor GP IIb/IIIa, der auch an andere Proteine, wie z. B. Fibronektin binden kann.

Im arteriellen Gefäßsystem unter hohen Scherkräften ist die Interaktion des Von-Willebrand-Faktors mit seinem Rezeptor GP Ib-IX-V von entscheidender Bedeutung für die Adhäsion der Thrombozyten. Das Fehlen oder die reduzierte Expression des Rezeptors für den Von-Willebrand-Faktor (vWF) auf der Thrombozytenoberfläche (Bernard-Soulier-Syndrom) führt zu einer erhöhten Blutungsneigung, weil die Thrombozyten nicht ausreichend an vWF adhärieren können. Genauso führt die Reduktion des vWF oder eine Veränderung seiner Struktur zu einer Blutungsneigung variabler Ausprägung, der Von-Willebrand-Erkrankung (▶ Kap. 30.6 und 30.7).

Im venösen Gefäßsystem erfolgt die Adhäsion der Thrombozyten über die Kollagenrezeptoren GP Ia-IIa, IV und VI. Ein hereditärer Mangel an GP Ia-IIa ist extrem selten. Ein GP-IV-Mangel kommt bei Japanern häufiger vor, ist aber nicht mit einer erhöhten Blutungsneigung verbunden.

Autoantikörper sind eine seltene Ursache für eine Störung der Kollagen-Thrombozyten-Interaktion. Vor allem Anti-GP-Ia-IIa-Autoantikörper sollten bei Patienten mit erworbener starker Blutungsneigung ohne andere Erklärung ausgeschlossen werden. Die Thrombozytenzahl ist bei diesen Patienten normal!

Der sehr seltene GP-VI-Mangel kann durch eine Expressionsstörung des GP VI oder durch ein antikörpervermitteltes verstärktes Shedding (Abspalten) des GP-VI-Moleküls von der Thrombozytenoberfläche induziert werden.

Hämatologische Grunderkrankungen, wie z. B. monoklonale Gammopathien (multiples Myelom, Waldenström-Krankheit, Amyloidose) können zur Störung der Rezeptor-Ligand-Interaktion führen und damit die Blutungsneigung verstärken. Auch beim myelodysplastischen Syndrom kann die GP-Ia-IIa-Expression reduziert sein (◘ Tab. 30.5).

Seltene angeborene Kollagenbildungsstörungen wie beim Ehlers-Danlos-Syndrom stören auch die Rezeptor-Ligand-Interaktion und damit die Adhäsion der Thrombozyten über den Kollagenrezeptor.

### Störungen der Signaltransduktion

Die aktivierten Rezeptoren der Thrombozytenoberfläche aktivieren in der Zelle weitere Signalkaskaden. Diese führen zur Phosphorylierung von Enzymen, Freisetzung von Kalziumionen, Veränderung des Zytoskeletts und der Aktivierung weiterer Oberflächenrezeptoren (»inside-out

**◘ Tab. 30.5.** Störung der Thrombozytenadhäsion

| Rezeptor | Ligand | Funktion | Erkrankung | Klinik |
|---|---|---|---|---|
| GP Ib-IX-V | Von-Willebrand-Faktor | Adhäsion insbesondere unter hohen Scherkräften | Bernard-Soulier-Syndrom<br>Von-Willebrand-Erkrankung | Blutungsneigung |
| GP Ibα | Von-Willebrand-Faktor | | Von-Willebrand-Plättchentyp | Blutungsneigung, aber auch erhöhtes Risiko für arterielle Verschlüsse |
| GP Ia-IIa, GP VI | Kollagen | Kollagenbindung, insbesondere unter niedrigen Scherkräften | GP-Ia-IIa-Mangel/inhibierende Antikörper<br>GP-VI-Mangel/Autoantikörper<br>Ehlers-Danlos-Syndrom (Kollagenbildungsstörung) | Blutungsneigung |
| GP IV | Kollagen, Thrombospondin | | Keine definierte Erkrankung, konstitutioneller GP-IV-Mangel bei Japanern ist häufig | Keine Blutungsneigung |
| GP Ibα, verlängert | Von-Willebrand-Faktor | Funktionell verminderte Thrombinbindung | Bolin-Jamieson-Syndrom | Milde Blutungsneigung |
| GP IIb-IIIa | Fibrinogen, Fibronektin, vWF | Fibrinogenbindung, direkte Interaktion mit vWF unter hohen Scherkräften* | Thrombasthenie Glanzmann<br>Dys- und Afibrinogenämie<br>Medikamente: GP-IIIa-Antagonisten | Blutungsneigung |

* Die klinische Relevanz für die Adhäsion ist unklar. Die Störung der Aggregation steht im Vordergrund

signalling«). Diese Aktivierungsschritte induzieren den Formenwandel der Thrombozyten (»shape change«).

Störungen in der Signaltransduktion beeinflussen nicht nur den Aktivierungsweg über einen einzelnen Rezeptor, sondern betreffen oft mehrere Aktivierungsschritte (Tab. 30.6). Die meisten Signalschritte werden initial über G-Proteine vermittelt. Hereditäre Defekte für Proteinkinasen und Phospholipase C sowie einzelne G-Proteine sind sehr selten und durch die häufig redundante Funktion, insbesondere der verschiedenen G-Proteine, mit variabler klinischer Symptomatik assoziiert. Eine genaue Diagnose von Störungen der Signaltransduktion gelingt nur selten.

**! Medikamente sind bei weitem die häufigste Ursache für Störungen der Signaltransduktion.**

### Störung der Signalamplifikation durch Korezeptoren

Besondere klinische Relevanz haben Störungen, die direkt (ADP-Rezeptor-Antagonisten) oder indirekt (ASS) zu einer Einschränkung der Funktion der Rezeptoren für ADP ($P2Y_{12}$), Serotonin, Thromboxan $A_2$ und Thrombin führen. Diese Rezeptoren sind essenzielle Verstärker der Signale der Adhäsionsrezeptoren und werden benötigt, damit ein stabiles Thrombozytenaggregat gebildet werden kann (Tab. 30.7).

Angeborene Rezeptordefekte sind sehr selten. Blockierende Medikamente wie ASS, ADP-Rezeptor-Antagonisten und (sehr unterschätzt) Serotonin-Wiederaufnahmehemmer werden jedoch außerordentlich häufig angewendet. Die Blutungsneigung ist in der Regel mild, aber zusammen mit plasmatischen Gerinnungsstörungen oder im Fall von Verletzungen oder Operationen können schwere Blutungskomplikationen auftreten.

### Störungen der Granulasekretion

Während der Aktivierung der Thrombozyten werden die Inhaltsstoffe der Granula freigesetzt. Dies ist ein wichtiger Verstärkungsmechanismus der Thrombozytenaggregation, aber auch der plasmatischen Gerinnung. In den Granula gespeicherte Zytokine und Glykoproteine wie P-Selectin oder CD40L sind wichtig für die Rekrutierung von Leukozyten und die Beeinflussung des Immunsystems. Speicher- und Sekretionsdefekte sind meistens erworben. Unter den hereditären Thrombozytopathien bilden sie die zahlenmäßig größte Gruppe.

Die Störung der Granulasekretion kann entweder auf das Fehlen von Inhaltsstoffen oder auf eine Störung der Freisetzung derselben zurückgeführt werden. Eine Verminderung der Speichergranula oder deren Inhalts ist relativ einfach zu diagnostizieren, während Störungen in den komplexen Prozessen der Granulafreisetzung schwierig zu

**Tab. 30.6.** Störungen der Signaltransduktion

| Defekt | Funktion | Erkrankung/Auslöser | Klinik |
|---|---|---|---|
| G-Protein | Shape Change nach Induktion durch ADP, Thrombin, Thromboxan $A_2$, Adrenalin, plättchenaktivierender Faktor (PAF) | – Gαq-Mangel<br>– Gαs-Mutation mit verstärkter cAMP-Bildung<br>– Gαi1-Mangel | Blutungsneigung |
| Verschiedene Effektorenzyme | – Arachidonsäurestoffwechsel<br>– Thromboxan-$A_2$-Synthese<br>– Effektorphosphorylierung, z. B. Pleckstrin | – Zyklooxygenase, Thromboxansynthasedefekt<br>– Medikamente (ASS, Ibuprofen, Diclofenac, Phosphodiesteraseinhibitoren, Furosemid, Nitrofurantoin)<br>– Alkohol, Eicosapentaensäure in Fischöl<br>– Dysmegakaryozytopoese bei hämatologischen Erkrankungen<br>– hereditärer partieller PLC-$α_2$-Isoenzym-Defekt<br>– Proteinkinase PKC-θ-Defekt | Blutungsneigung |
| Zytoskelett | WAS-Protein-Signalübertragung auf das Aktinzytoskelett und die Aktinfilamentbildung | Wiskott-Aldrich-Syndrom | Blutungsneigung |
| | Vernetzung des nicht-muskulären Myosin IIa mit dem Zytoskelett | MYH9 assoziierte hereditäre Makrothrombozytopenien | Milde Blutungsneigung |
| Komplexe Störungen im intrazellulären cAMP und $Ca^{2+}$-Haushalt | Verminderung der Thromboxan-$A_2$-und Prostaglandinsynthese | Urämie | Blutung |

Tab. 30.7. Störungen der Signalamplifikation

| Rezeptor | Funktion | Erkrankung | Klinik |
|---|---|---|---|
| Thromboxan-A2-Rezeptor | Signalverstärkung über Thromboxan $A_2$ | Dominanter $TxA_2$-Mangel, Mutation Arg60-Leu des $TxA_2$-Rezeptors | Blutungsneigung |
| $P2Y_1$-Rezeptor | ADP-Signalamplifikation, $Ca^{2+}$-Mobilisation, Shape Change | Angeborener ADP-Rezeptormangel oder -defekt | Milde Blutungsneigung |
| $P2Y_{12}$-Rezeptor | Potenzierung der Plättchensekretion, irreversible Aggregation, adrenalininduzierte Aggregation | Angeborene Defekte; Medikamente: Clopidogrel, Ticlopidin | Blutungsneigung |
| $P2X_1$-Rezeptor | Potenzierung der Thrombozytenaggregation unter hohen Scherkräften | Angeborene Defekte (dominant negative $P2X_1$-Mutation) | Blutungsneigung |
| $\alpha_2$-adrenerger Rezeptor | Signalamplifikation nach Adrenalinbindung | Adrenalinrezeptormangel | Milde Blutungsneigung |
| $5\text{-}HT_{2A}$-Rezeptor | Serotonininduzierte Amplifikation | Medikamente: Serotonin-Wiederaufnahmehemmer, Sarpogrelat, Ketanserin, Methysergid, atypische Neuroleptika, LSD | Milde Blutungsneigung, kann aber in Risikosituationen eine Blutungsneigung potenzieren |



diagnostizieren sind. Es ist wahrscheinlich, dass viele Granulasekretionsstörungen durch Störungen/Mutationen verursacht werden, die nicht direkt mit den thrombozytären Speichern verbunden sind (Tab. 30.8).

## Störungen der prokoagulatorischen Oberfläche

Ein wichtiger Katalysator der Gerinnungskaskade ist die Phospholipidoberfläche aktivierter Thrombozyten. Nicht nur die Größe der Oberfläche spielt eine Rolle bei der Gerinnungsaktivierung, sondern auch die Veränderung der Zusammensetzung bei der Aktivierung (Tab. 30.9). Störungen der Reorganisation der Thrombozytenmembran führen zu einer moderaten Blutungsneigung. In Situationen, in denen die volle Aktivität des Hämostasesystems benötigt wird (z. B. größere operative Eingriffe), können schwere Blutungskomplikationen auftreten.

Tab. 30.8. Störungen der Granulasekretion

| Defekt | Funktion | Erkrankung | Klinik |
|---|---|---|---|
| »Dense bodies« (δ-Granula) | Speicherung und Sekretion von ADP, ATP, Serotonin, Kalzium, Phosphat | – δ-Storage-Pool-Erkrankung:<br>  – Hermansky-Pudlak-Syndrom<br>  – Chediak-Higashi-Syndrom<br>  – Wiskott-Aldrich-Syndrom<br>– Medikamente: Serotonin-Wiederaufnahmehemmer | Milde Blutungsneigung |
| MRP-4-Defekt | ADP-Transporter in Thrombozyten | – Selektiver Storage-Pool-Defekt für ADP mit normaler Serotoninspeicherung | Milde Blutungsneigung |
| α-Granula | Speicherung und Sekretion von Aktivatoren und Gerinnungsfaktoren | – α–Storage-Pool-Erkrankung:<br>  – Gray-Platelet-Syndrom<br>  – ARC-(Arthrogryposis, Niereninsuffizienz und Cholestase-)Syndrom<br>  – QPD (»Quebec platelet disorder«)<br>– Medikamente: Reserpin, Methysergid, Trizyklische Antidepressiva, Phenothiazin<br>– myeloproliferative Erkrankungen<br>– Alkohol<br>– Herzklappenvitien<br>– extrakorporale Zirkulationen | Blutungsneigung |

**Tab. 30.9.** Störung der prokoagulatorischen Oberfläche

| Defekt | Mechanismus | Erkrankung | Klinik |
|---|---|---|---|
| Verminderte Expression von Membranphospholipiden auf aktivierten Thrombozyten | Fehlender Flip-flop-Transport von Phophatidylserin (PS) von intrazellulär an die Plättchenaußenmembran (fehlende Thrombinamplifikation) | Scott-Syndrom | Blutungsneigung |
| Vermehrte Expression von Membranphospholipiden auf ruhenden Thrombozyten | Expression von PS bereits auf ruhenden Thrombozyten | Stormorken-Syndrom | Blutungsneigung |
| Serotoninmangel | Führt zum schnelleren Abstrom prokoagulatorischer Proteine wie Fibrinogen oder Thrombospondin von der Plättchenoberfläche | Serotonin-Wiederaufnahmehemmer (Antidepressiva) | Milde Blutungsneigung |

**Tab. 30.10.** Störungen der Thrombusfestigkeit

| Defekt | Mechanismus | Erkrankung | Klinik |
|---|---|---|---|
| Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ (GP-IIb-IIIa-Rezeptor) | Störung der Gerinnselretraktion | Thrombasthenie Glanzmann | Blutungsneigung |
| Fibrinogen | Störung der Gerinnselbildung, keine Vernetzung der GP-IIb-IIIa-Rezeptoren auf den Thrombozyten | Afibrinogenämie, Dysfibrinogenämie | Blutungsneigung |
| Kontraktion des Aktin-Myosin-Zytoskeletts | Störung der Gerinnselretraktion | MYH-9-assoziierte Makrothrombozytopenie (heterozygot) | Milde bis ausgeprägte Blutungsneigung |

### Störungen der Thrombusfestigkeit

Am Ende der Thrombozyten- bzw. der Gerinnungsaktivierung entsteht ein Thrombus. Seine Festigkeit wird durch die Vernetzung der Thrombozyten untereinander über Fibrinogen, die Kontraktion der Thrombozyten und durch die Quervernetzung des Fibrins erreicht. Die fehlende oder reduzierte Expression von aktivem GP IIb-IIIa, wie bei der Glanzmann-Thrombasthenie, und Störungen der Reorganisation des thrombozytären Zytoskeletts verursachen Thrombozytenfunktionsstörungen. Defekte im Fibrinogen (z. B. erworbener Mangel an Fibrinogen bei schweren Blutungen oder Leberfunktionsstörungen) sowie eine Hyperfibrinolyse beeinträchtigen die Gerinnselfestigkeit (Tab. 30.10).

### Klinik

Der thrombozytäre Blutungstyp zeigt sich durch:
- multiple, kleinere Hämatome an Stellen mit mechanischer Belastung,
- Nachblutungen nach Zahnextraktionen und Tonsillektomie,
- Menorrhagien, die oft zur Eisenmangelanämie führen,
- Blutungskomplikationen während oder nach operativen Eingriffen.

Petechien sind eher typisch für eine akut auftretende ausgeprägte Thrombozytopenie. Spontane Schleimhautblutungen und v. a. Blutblasen im Mundbereich sind das wichtigste klinische Zeichen für eine bedrohliche Blutungsgefährdung.

Die Ausprägung der Symptome ist sehr variabel. Bei hereditären Thrombozytenstörungen variieren sie selbst zwischen Patienten mit dem gleichen genetischen Defekt bzw. innerhalb einer Familie stark.

Die primäre Hämostase ist auch vom Hämatokrit abhängig, da die Thrombozyten durch die Erythrozyten an die Gefäßwand gedrückt werden. Eine Anämie (besonders häufig bei Frauen mit Thrombozytopathie) verstärkt die Blutungsneigung. Der Ausgleich des Eisenmangels und Normalisierung des Hämatokrits sind daher grundlegender Bestandteil des Managements aller Thrombozytopathien.

**! Bei Patienten mit Thrombozytenstörungen ist die plasmatische Gerinnung nicht gestört. In entsprechenden Risikosituationen, z. B. nach großen operativen Eingriffen, haben diese Patienten das gleiche Risiko für die Entwicklung von Thrombosen wie andere Patienten. Eine kurzfristige Thromboseprophylaxe ist weniger problematisch als die Notwendigkeit für eine langfristige Antikoagulation nach Thrombose.**

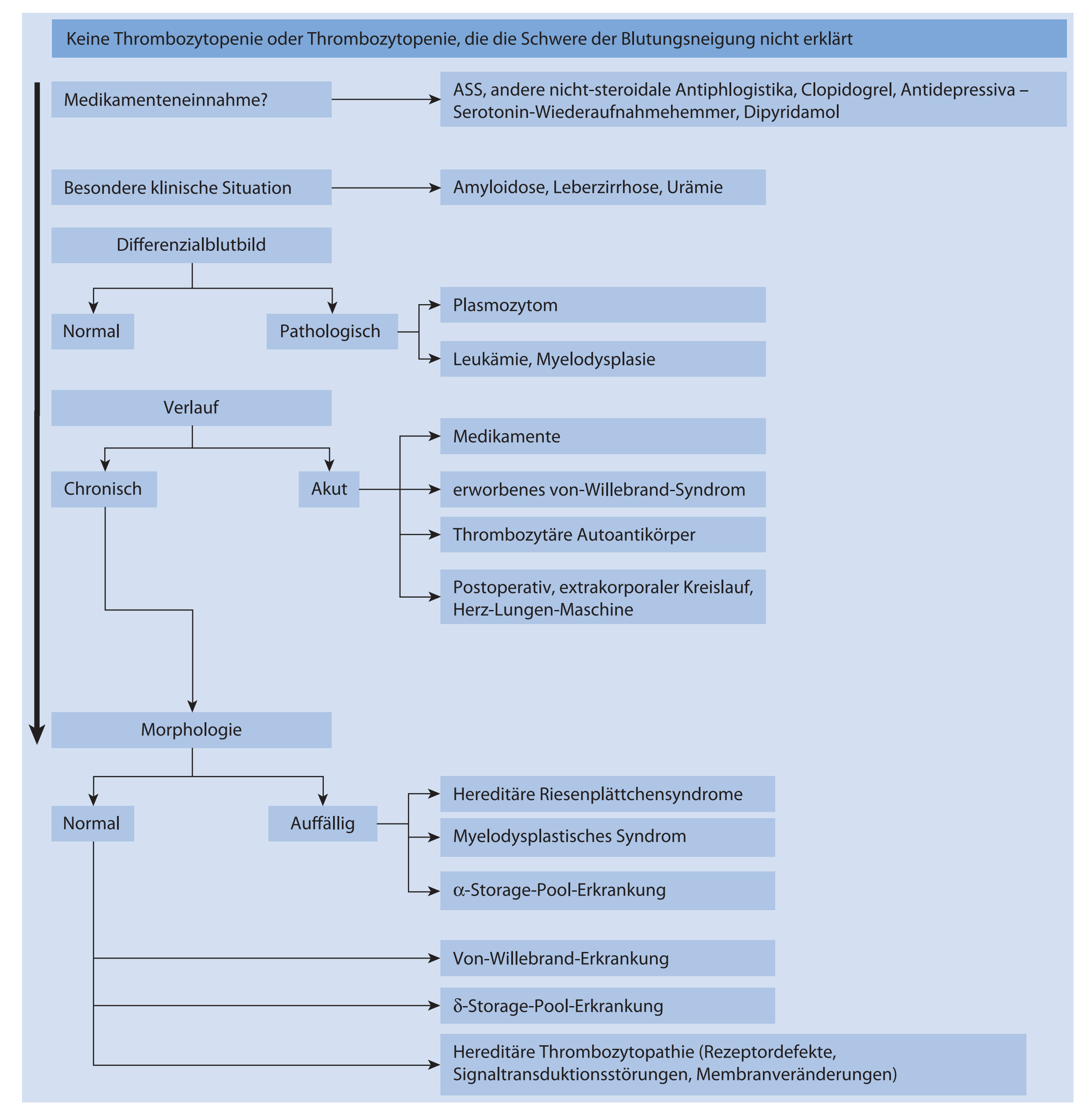
### Diagnostik

Es gibt keinen Labortest, mit dem alle Thrombozytenfunktionsstörungen identifiziert und differenziert werden können.

Die Basis für die Diagnose ist eine gerichtete Anamnese des Patienten und seiner Verwandten. Die Medikamenteneinnahme innerhalb der letzten 2–3 Wochen sollte besonders berücksichtigt werden, da sie der häufigste Grund für eine erworbene Thrombozytopathie darstellt. Die Thrombozytenmorphologie im einfachen Blutausstrich sowie das Thrombozytenvolumen und die -verteilungskurve sind weitere überall verfügbare Parameter, die es bereits erlauben, einen großen Teil der Thrombozytenstörungen einzugrenzen.

Thrombozytenfunktionsstörungen werden durch die globalen Gerinnungstests nicht erfasst. Bei verstärkter Blutungsneigung und normalen Globalgerinnungstesten sind die Ursachen in abnehmender Wahrscheinlichkeit: Thrombozytopathie > Von-Willebrand-Erkrankung > Hyperfibrinolyse.

Ein Stufenschema zum diagnostischen Vorgehen beim Verdacht auf eine Thrombozytopathie ist in ◘ Abb. 30.2 zusammengefasst. Besteht der Verdacht auf eine hereditäre Thrombozytopenie oder -pathie, kann ein spezieller Diagnosealgorithmus (◘ Abb. 30.3, angepasst an den Algorithmus der »Gruppo di Studio delle Piastrine«) die Abklärung erleichtern (Noris 2004).




◘ **Abb. 30.2.** Stufenschema zur Diagnostik einer Thrombozytopathie. (Aus Greinacher 2005b)

Die richtige Diagnose einer hereditären Thrombozytopenie/Thrombozytopathie hat entscheidende Bedeutung für die Prognose, verhindert nicht indizierte Therapien, z. B. die Splenektomie, eröffnet Heilungschancen, z. B. durch Stammzelltransplantation, und erlaubt eine rationale Therapie in speziellen Situationen.

Eine verlängerte In-vivo-Blutungszeit ist ein wichtiger Hinweis für eine Störung der primären Hämostase. Die Sensitivität und Spezifität der Methode ist jedoch stark abhängig vom Untersucher und nur in den Händen erfahrener Untersucher aussagekräftig. In der Regel erlaubt sie keine prädiktive Aussage über das individuelle Blutungsrisiko eines Patienten im Rahmen operativer Eingriffe.

Die Bestimmung der **In-vitro-Blutungszeit**, **PFA-100** (platelet function analyzer 100, Siemens Healthcare; ► Kap. 58), eignet sich als Screeningtest für Thrombozytenfunktionsstörungen unter hohen Scherkräften einschließlich eines vWS und einer ASS-induzierten Thrombozytopathie. Andere auch ausgeprägte Thrombozytenfunktionsstörungen, z. B. durch Clopidogrel, werden von der Methode nicht erfasst. Für die Beurteilung der In-vitro-Blutungszeit wie auch der klassischen Aggregometrie nach Born ist eine Thrombozytenzahl von mindestens 100.000/µl erforderlich. Bei niedrigeren Werten müssen die Ergebnisse sehr vorsichtig interpretiert werden.

In der **Aggregometrie nach Born** kann die Reaktion der Thrombozyten auf verschiedene Induktoren (ADP, Kollagen, Epinephrin, Ristocetin, Arachidonsäure, Thromboxan, Thrombinrezeptor-aktivierendes Peptid [TRAP]) überprüft werden. Es werden der Formwandel, die Geschwindigkeit der Reaktion und die maximale Aggregation beurteilt (Tab. 30.11).

Im Durchflusszytometer können die Expression der wichtigsten Rezeptoren (GP IIb-IIIa, GP Ib-IX) auf der Thrombozytenoberfläche (siehe Übersicht) und die Anfärbbarkeit der dichten Granula relativ einfach bestimmt werden. Darüber hinausgehende Thrombozytenuntersuchungen sind Speziallaboren vorbehalten und umfassen weitere durchflusszytometrische Analysen, Immunfluoreszenzuntersuchungen, Plättchenadhäsionstests, Serotonin-Assays, Lumiaggregometrie zur Messung der ATP/ADP-Freisetzung, Plättchenproteom- und Transkriptomanalysen sowie genetische Untersuchungen zur Feststellung von Mutationen.

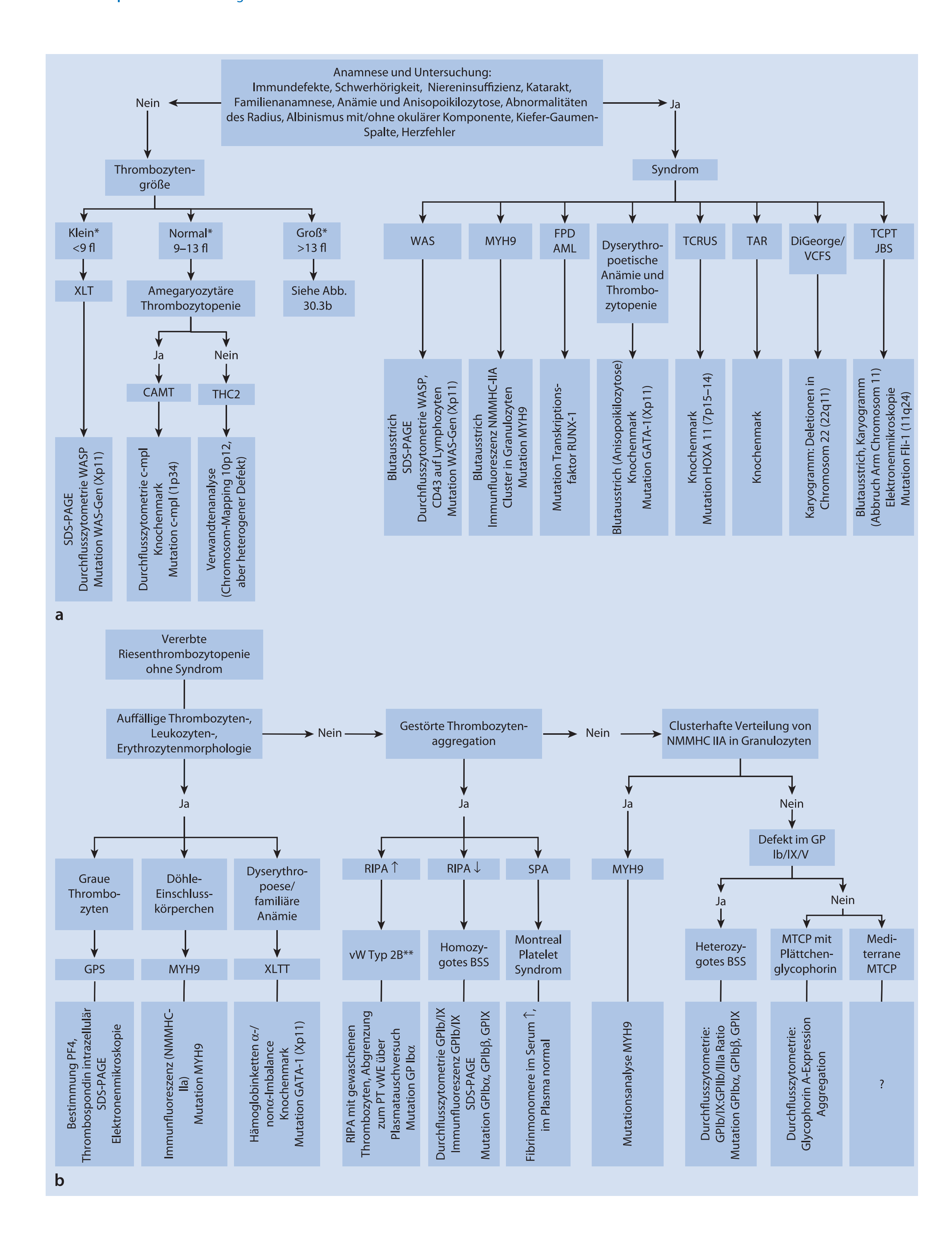
**Durchflusszytometrische Untersuchungen zur Diagnostik einer Thrombozytopathie (Jurk 2007, Maurer-Spurej et al. 2007)**

- Quantifizierung von Thrombozyten-Glykoproteinrezeptoren
- konzentrationsabhängige Induktion der Fibrinogenbindung durch verschiedene Agonisten (z. B. ADP, Arachidonsäure, Adrenalin, Kollagen, Thrombin PAR-1/PAR-4-aktivierende Peptide, Thromboxan) und Bindung des vWF durch Ristocetin
- konzentrationsabhängige Induktion der P-Selektin-Expression durch verschiedene Agonisten als Marker für die α-Granula-Sekretion
- konzentrationsabhängige Induktion der CD-63-Expression durch verschiedene Agonisten als Marker der Dense-Body-/Lysosomensekretion
- Mepacrinaufnahme in die Dense-Bodies und Wiederfreisetzung durch Agonisten
- CD40L-Expression induziert durch Agonisten (Kollagen, Thrombin) als Marker der Exozytose aus internen Speichern
- Annexin-V-Bindung an negativ geladene Phospholipide auf der Thrombozytenoberfläche nach Aktivierung mit Kollagen und Thrombin
- Bindung von Gerinnungsfaktoren an aktivierte Plättchen
- Untersuchungen der intra- und extrazellulären Proteinveränderungen durch Phosphorylierung, Glutathionbindung, S-Nitrosylierung
- Quantifizierung von Leukozyten-Thrombozyten-Aggregaten
- aktivierungsbedingte Rezeptorspaltungen (z. B. PAR-1, PAR-4, GP Ib, GP V, GP VI, CD36, CD40L)
- Mikropartikelmessungen
- Serotonin-Assay

## 30.3.1 Hereditäre Thrombozytopathien

### MYH9-assoziierte Makrothrombozytopenien

MYH9-assoziierte Makrothrombozytopenien sind eine heterogene Gruppe von dominant vererbten Thrombozytopenien mit der charakteristischen Bildung von Riesenthrombozyten und dem Auftreten von Einschlusskörperchen (Döhle-Bodies) in den segmentkernigen Granulozyten. Ursache sind Mutationen im MYH9-Gen (Chromosom 22q12-13), die zu einer Veränderung der schweren Ketten des nicht muskulären Myosins Typ IIA (NMMHC IIA) und damit zu einer Störung im Zytoskelett der Megakaryozyten und Thrombozyten führen. In Abhängigkeit von der Lokalisation der Mutation können weitere Symptome im Vordergrund des Phänotyps stehen. Dazu gehören eine Glomerulonephritis mit zunehmender Niereninsuffizienz,


Anamnese und Untersuchung:
Immundefekte, Schwerhörigkeit, Niereninsuffizienz, Katarakt, Familienanamnese, Anämie und Anisopoikilozytose, Abnormalitäten des Radius, Albinismus mit/ohne okulärer Komponente, Kiefer-Gaumen-Spalte, Herzfehler
Nein
Ja
Thrombozyten-größe
Klein* <9 fl
Normal* 9–13 fl
Groß* >13 fl
XLT
Amegaryozytäre Thrombozytopenie
Siehe Abb. 30.3b
Ja
Nein
CAMT
THC2
SDS-PAGE
Durchflusszytometrie WASP
Mutation WAS-Gen (Xp11)
Durchflusszytometrie c-mpl
Knochenmark
Mutation c-mpl (1p34)
Verwandtenanalyse
(Chromosom-Mapping 10p12, aber heterogener Defekt)
Syndrom
WAS
MYH9
FPD AML
Dyserythro-poetische Anämie und Thrombo-zytopenie
TCRUS
TAR
DiGeorge/ VCFS
TCPT JBS
Blutausstrich
SDS-PAGE
Durchflusszytometrie WASP, CD43 auf Lymphozyten
Mutation WAS-Gen (Xp11)
Blutausstrich
Immunfluoreszenz NMMHC-IIA Cluster in Granulozyten
Mutation MYH9
Mutation Transkriptions-faktor RUNX-1
Blutausstrich (Anisopoikilozytose)
Knochenmark
Mutation GATA-1(Xp11)
Knochenmark
Mutation HOXA 11 (7p15–14)
Knochenmark
Karyogramm: Deletionen in Chromosom 22 (22q11)
Blutausstrich, Karyogramm (Abbruch Arm Chromosom 11)
Elektronenmikroskopie
Mutation Fli-1 (11q24)
a
Vererbte Riesenthrombozytopenie ohne Syndrom
Auffällige Thrombozyten-, Leukozyten-, Erythrozytenmorphologie
Nein
Gestörte Thrombozyten-aggregation
Nein
Clusterhafte Verteilung von NMMHC IIA in Granulozyten
Ja
Ja
Ja
Nein
Graue Thrombo-zyten
Döhle-Einschluss-körperchen
Dyserythro-poese/ familiäre Anämie
RIPA ↑
RIPA ↓
SPA
MYH9
Defekt im GP Ib/IX/V
Ja
Nein
GPS
MYH9
XLTT
vW Typ 2B**
Homozy-gotes BSS
Montreal Platelet Syndrom
Heterozy-gotes BSS
MTCP mit Plättchen-glycophorin
Medi-terrane MTCP
Bestimmung PF4, Thrombospondin intrazellulär
SDS-PAGE
Elektronenmikroskopie
Immunfluoreszenz (NMMHC-IIa)
Mutation MYH9
Hämoglobinketten α-/nonα-Imbalance
Knochenmark
Mutation GATA-1 (Xp11)
RIPA mit gewaschenen Thrombozyten, Abgrenzung zum PT vWE über Plasmatauschversuch
Mutation GP Ibα
Durchflusszytometrie GPIb/IX
Immunfluoreszenz GPIb/IX
SDS-PAGE
Mutation GPIbα, GPIbβ, GPIX
Fibrinmonomere im Serum ↑, im Plasma normal
Mutationsanalyse MYH9
Durchflusszytometrie: GPIb/IX:GPIIb/IIIa Ratio
Mutation GPIbα, GPIbβ, GPIX
Durchflusszytometrie: Glycophorin A-Expression
Aggregation
?
b

**Tab. 30.11.** Typische Aggregometriebefunde bei Thrombozytopathien

| | ADP [5 mM] | ADP [20 mM] | Kollagen [0,1 µg/ml] | Kollagen [4 µg/ml] | Adrenalin [2 mM] | Adrenalin [10 mM] | Ristocetin [0,3 mg/ml] | Ristocetin [1,5 mg/ml] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| GP-IIb-IIIa-Defekte (Glanzmann-Thrombasthenie) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | N |
| GP-Ib-IX-Defekte (Bernard-Soulier Syndrom) | N | N | N | N | N | N | 0 | 0 |
| Zyklooxygenasedefekt, ASS-, Clopidogreleinnahme, Signaltransduktionsstörungen | ↓ | ↓-N | ↓-N | N | ↓ | N | 0 | N |
| δ-Storage-Pool-Defekt (mild) | ↓-N | N | ↓-N | N | ↓-N | N | 0 | N |
| δ-Storage-Pool-Defekt (schwer) | ↓ | ↓-N | ↓ | ↓-N | ↓ | ↓-N | 0 | N |
| α-Storage-Pool-Erkrankung | ↓ | N | ↓ | N | ↓ | N | 0 | N |
| ADP-Rezeptor-Defekt | 0 | 0 | ↓ | N | ↓ | N | 0 | N |
| Kollagen-Rezeptor-Defekte | N | N | ↓ | ↓ | N | N | 0 | N |
| Von-Willebrand-Erkrankung Typ 2B | N | N | N | N | N | N | Pos | N |
| Von-Willebrand-Plättchentyp | N | N | N | N | N | N | Pos | N |

*N* normal; *Pos* positiv; *0* keine Aggregation; ↓- reduziert

Kataraktbildung und Schwerhörigkeit insbesondere im Hochtonbereich bis hin zur Taubheit.

**Eine eindeutige Genotyp-Phänotyp-Beziehung gibt es nicht, aber tendenziell sind Mutationen im globulären Teil des NMMHC-IIA häufiger mit Organmanifestationen assoziiert.**

Praktisch alle Patienten mit Mutationen zwischen Aminosäure (AA) 1–1.100 entwickeln Nierenfunktionseinschränkungen und Schwerhörigkeit im Hochtonbereich. Mutationen im Schwanzbereich des Moleküls sind zwischen Position AA 1.100 und 1.400 v. a. mit Manifestation einer Schwerhörigkeit im mittleren Lebensalter verbunden. Nierenschäden sind selten. Mutationen im C-terminalen Ende (ca. AA 1.400–1.800) des NMMHC-IIA haben vorwiegend Patienten mit hämatologischen Symptomen (Dong et al. 2005). Eine vermehrte Inzidenz von Katarakten findet sich bei allen Mutationen im NMMHC-IIA. Aufgrund der klinischen Variabilität werden 4 Syndrome unterschieden (Tab. 30.12):

◄ **Abb. 30.3a,b.** Diagnostischer Algorithmus für hereditäre Thrombozytopathien. **a** Allgemeiner Algorithmus, **b** vererbte Riesenthrombozytopenie ohne Syndrom. *Die Thrombozytengröße wird abhängig vom Messverfahren unterschiedlich bestimmt, für jedes Gerät sollten eigene Normwerte erstellt werden; **beim PT vW normale TZ-Größe, RIPA – auch mit gewaschenen TZ; *BSS* Bernard-Soulier-Syndrom; *CAMT* kongenitale amegakaryozytäre Thrombozytopenie; *FPD/AML* familiäre Thrombozytopathie und Prädisposition für akute myeloische Leukämie; *GPS* Gray-Platelet-Syndrom; *JBS* Jacobsen-Syndrom; *MTCP* benigne mediterrane Makrothrombozytopenie; *NMMHC-IIA* nicht-muskuläres Myosin heavy chain IIA; *PTvWE* Von-Willebrand-Plättchentyp; *RIPA* Ristocetin-induzierte Plättchenaggregation; *SPA* spontane Plättchenaggregation; *TAR* Thrombozytopenie mit absent radii; *TCPT* Paris-Trousseau-Thrombozytopenie; *TCRUS* amegakaryozytäre Thrombozytopenie mit Radio-Ulnar-Synostose; *THC2* autosomal dominante Thrombozytopenie 2; *TZ* Thrombozyten; *VCFS* velokardiofaziales Syndrom; *WAS* Wiskott-Aldrich-Syndrom; *XLT* X-chromosomale Thrombozytopenie; *XLTT* X-chromosomale Thrombozytopenie mit Thalassämie

**Tab. 30.12.** MYH9-assoziierte Makrothrombozytopenien

| Symptome | May-Hegglin-Anomalie | Sebastian-Syndrom | Fechtner-Syndrom | Epstein-Syndrom |
|---|---|---|---|---|
| Makrothrombozytopenie | + | + | + | + |
| Granulozytäre Einschlusskörperchen (Döhle-Bodies) | + (parallele Filamente) | + | + | – |
| Nephritis | – | – | + | + |
| Katarakt | – | –/+* | + | – |
| Schwerhörigkeit | – | –/+* | + | + |
| Thrombozytenaggregation gestört | – | –/+ | –/+ | + (mit ADP, Kollagen) |

* Manifestation im mittleren Lebensalter



- May-Hegglin-Anomalie,
- Sebastian-Syndrom,
- Fechtner-Syndrom,
- Epstein-Syndrom.

Die NMMHC-IIA-Moleküle führen zu typischen Clustern in den Granulozyten. Diese sind ultrastrukturell unterschiedlich organisiert. Je näher die Mutation am Kopfbereich des Moleküls liegt, desto chaotischer sind die Moleküle zusammengeballt, während sie bei Mutationen im Schwanzbereich des Moluküls parallele Filamente bilden. Die geordneten Cluster färben sich als deutlich blaue Spindeln im normalen Blutausstrich gut an, während die anderen Einschlusskörperchen eher rund, deutlich kleiner und nur blass angefärbt sind. Dies macht es für den Ungeübten schwer sie zu erkennen.

Durch die Einschränkung der Myosinorganisation der Thrombozyten ist auch die Interaktion mit Aktin eingeschränkt. Dies führt zur reduzierten Gerinnselretraktion und verstärkten Blutungsneigung. Diese ist jedoch bei Betroffenen der gleichen Mutation sehr unterschiedlich ausgeprägt. Wahrscheinlich ist die Blutungsneigung davon abhängig, ob andere Proteine die Funktion des Myosins teilweise kompensieren können.

Diese angeborenen Makrothrombozytopenien sind häufiger als in der Literatur angegeben. In der näheren Umgebung von Greifswald (200.000 Einwohner) sind uns inzwischen 5 Familien mit insgesamt 13 betroffenen Patienten bekannt. Bislang wurden insgesamt 26 verschiedene Mutationen im MYH9-Gen nachgewiesen (Dong et al. 2005; Seri et al. 2003).

In der Regel besteht eine milde Blutungsneigung, die im täglichen Leben kaum Probleme bereitet. Deshalb ist die Thrombozytopenie oft ein Zufallsbefund. Die häufigste Fehldiagnose ist die einer Autoimmunthrombozytopenie. Dies führt sehr häufig zur Fehltherapie mit Immunsuppressiva bis hin zur Splenektomie.

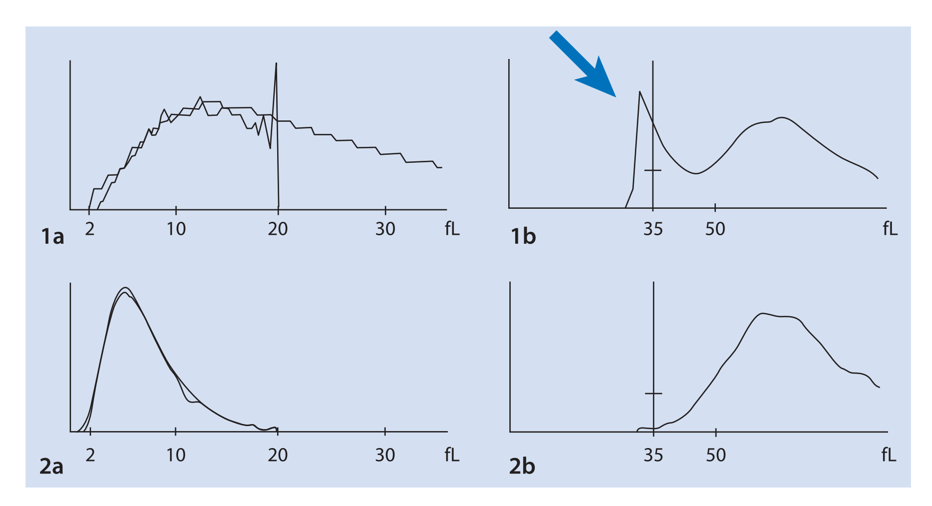



**Abb. 30.4a,b.** Thrombozyten- und Leukozytenverteilungskurven eines Patienten mit MYH9-assoziierter Makrothrombozytopenie (1) und eines gesunden Probanden (2). Der Pfeil markiert den bei einer Makrothombozytopenie typischen Peak in der Leukozytenverteilungskurve. **a** Thrombozytenverteilungskurve , **b** Leukozytenverteilungskurven (Aus Selleng et al. 2007)

Das Ausmaß der Blutungsneigung ist eine individuelle Eigenschaft, die sich im Verlauf des Lebens nicht ändert. Die Anamnese ist daher ein wichtiges Kriterium bei der Einschätzung des Blutungsrisikos vor operativen Eingriffen. Eine Eisenmangelanämie ist bei betroffenen Frauen häufig wegen der höheren Blutverluste während der Menstruation. Hier ist eine entsprechende Substitution sinnvoll.

In erster Linie sind die Anamnese des Patienten und die von Familienmitgliedern wegweisend. Laboruntersuchungen, die in jedem nicht spezialisierten Labor durchgeführt werden können, sind:

- kleines Blutbild: Thrombozytopenie mit sehr variablen Zellzahlen, mittleres Plättchenvolumen >12 fl, breite Streuung der Thrombozyten in der Thrombozytenverteilungskurve, typischer Makrothrombozyten-Peak (Abb. 30.4) in der Leukozytenverteilungskurve;
- Kammerzählung der Thrombozyten: Ausschluss falsch niedriger Thrombozytenzahlen; werden Blutbilder an automatischen Zellzählgeräten durchgeführt, wird die Thrombozytenzahl zu niedrig bestimmt. Eine »Leukozytose« bei gleichzeitiger Thrombozytopenie kann der erste Hinweis für eine Makrothrombozytopenie sein. Die Thrombozytenverteilungskurve ist hier wegweisend;
- Blutausstrich: gefärbt nach May-Grünwald/Giemsa, Beurteilung der Thrombozytengröße (normal: 4–5 Thrombozyten entsprechen der Größe eines Erythrozyten), Beurteilung der Granularität, Suche nach Einschlusskörperchen (Döhle-Bodies) in den segmentkernigen Granulozyten;
- Immunfluoreszenzfärbung von Blutausstrichen mit Antimyosin-Antikörpern: typisch ist eine Cluster-förmige Verteilung des NMMHC-IIa (Abb. 30.5);
- Mutationsanalyse: ist für die primäre Diagnostik keine zwingende Untersuchung, kann aber in Einzelfällen sinnvoll sein für die Prognoseabschätzung und Beratung des Patienten zur Lebensführung;
- Laboruntersuchungen zur Feststellung einer Niereninsuffizienz;
- Audiogramm;
- Ausschluss eines Katarakts;
- Thrombozytenzahl bei Verwandten 1. Grades: Dies ist oft die einfachste Methode zur Sicherung der Diagnose.

Eine spezielle Therapie der MYH9-Erkrankungen ist nicht möglich. Wichtig ist die Kontrolle des Eisenhaushalts und des Hämatokrits. Eingriffe mit eingeschränkter Möglichkeit der chirurgischen Blutstillung, wie z. B. Zahnextraktionen, sollten mehrzeitig und immer nur auf einer Seite durchgeführt werden, um beim Auftreten größerer Weichteilhämatome das Risiko einer Luftröhrenkompression zu reduzieren. Bei Blutungskomplikationen ist die Gabe von DDAVP (Desmopressin) und/oder eines Antifibrinolytikums Mittel der ersten Wahl. Unterstützend sollten auch physikalische Maßnahmen wie lokal kühlende Umschläge, zur Vasokonstriktion und Unterdrückung der Inflammation eingesetzt werden.

Die Indikation zur Thrombozytentransfusion sollte wie bei allen hereditären Thrombozytenstörungen restriktiv gestellt werden, um Alloimmunisierungen gegen thrombozytäre und HLA-Klasse-I-Antigene so lange wie möglich zu vermeiden. Patienten ohne anamnestische Blutungsneigung lassen sich in der Regel auch ohne hämostyptische Maßnahmen komplikationslos operieren. Nach großen operativen Eingriffen haben diese Patienten trotz der Thrombozytopenie in etwa das gleiche Thromboserisiko wie Patienten ohne Thrombozytenfunktionsstörung, sodass nach Abwägung des Blutungsrisikos neben physikalischen Maßnahmen eine medikamentöse Thromboseprophylaxe indiziert sein kann (Selleng et al. 2007).

### Bernard-Soulier-Syndrom

Patienten mit dem rezessiv vererbten Bernard-Soulier-Syndrom (BSS) zeigen eine Makrothrombozytopenie und eine erhöhte Blutungsneigung. Bei Patienten mit BSS ist der Glykoprotein-Ib-IX-V-Komplex stark vermindert (Typ I) oder fehlt (Typ II). Sehr selten ist die Expression des GP-Ib-V-IX-Komplexes normal, aber die Funktion ist gestört (Bolzano-Variante). Das homozygote bzw. doppelt heterozygote BSS ist sehr selten, es kommt mit einer Prävalenz von 1:1 Million Menschen vor. Die Inzidenz heterozygoter Genträger, die leicht vergrößerte Thrombozyten, aber eine normale Funktion haben, wird auf 1:500 geschätzt (Balduini et al. 2002). Klinisch sind heterozygote Erbträger in der Regel unauffällig. Die Blutungssymptomatik beim BSS manifestiert sich im frühen Lebensalter. Die Schwere kann sich jedoch nach der Pubertät und im Erwachsenenalter ändern. Sie variiert auch innerhalb einer Familie.

Die Thrombozytopenie ist variabel, in der Regel mit Werten <100.000/µl. Riesenthrombozyten sind immer vorhanden. In der Regel sind mehr als ein Drittel der Thrombozyten größer als ein halber Erythrozyt. Die Diagnose lässt sich einfach im Durchflusszytometer sichern (Ratio GP-Ib-IX- vs. GP-IIb-IIIa-Expression erniedrigt) und durch die fehlende Aggregation bzw. Agglutination der Thrombozyten mit Ristocetin in hoher Konzentration bestätigen. Auch die Aktivierung durch niedrige Dosen Thrombin ist eingeschränkt (Balduini et al. 2002).

**! Antifibrinolytika, DDAVP (Lubenow et al. 2006), rFVIIa (Ozelo et al. 2005) und Thrombozytentransfusionen können bei Blutungen eingesetzt werden.**

Letztere können jedoch eine Alloimmunisierung gegen das beim Patienten fehlende Thrombozytenantigen oder HLA-Klasse-I-Antigen bewirken und zu einer Transfusionsrefraktärität führen. Bei besonders schwerer spontaner Blutungssymptomatik ist die allogene Stammzelltransplantation eine Therapieoption.

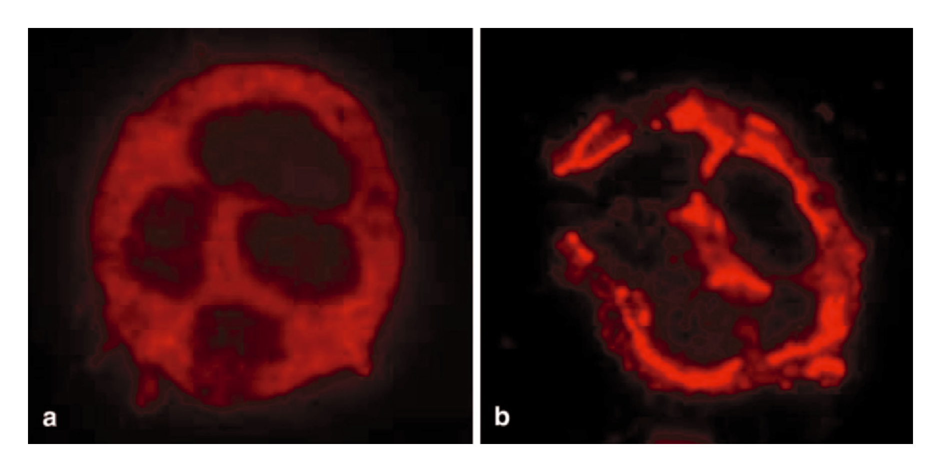



**Abb. 30.5a,b.** Immunofluoreszenzfärbung. **a** Granulozyten eines Gesunden. **b** Patient mit MYH9-Mutation. (Aus Selleng et al. 2007)



## Andere Thrombozytopathien mit Zytoskelettdefekten

Neben den MYH9-assoziierten Makrothrombozytopenien und dem BSS gehören die Enyeart-Anomalie, das Jacobsen/Paris-Trousseau-Syndrom und andere nicht weiter klassifizierbare familiäre Makrothrombozytopenien zu den in der Regel dominant vererbten Thrombozytopenien, die Riesenthrombozyten aufweisen. Nicht bei allen ist der genetische Defekt bisher aufgeklärt.

Für die **X-chromosomale Makrothrombozytopenie** sind Mutationen im GATA-1-Gen verantwortlich, einem Transkriptionsfaktor, der in der Megakaryozytopoese und der Erythropoese von Bedeutung ist (Nichols et al. 2000). Störungen der Megakaryozytopoese betreffen insbesonders die Synthese und Expression des GP-Ib-IX-V-Komplexes, die die entsprechende Thrombozyopathie verursacht. Störungen der Erythropoese verursachen eine familiäre Anämie.

Weitere familiär auftretende Makrothrombozytopenien ohne zusätzliche Klassifikationsmerkmale sind beschrieben worden. Wahrscheinlich führen bislang nicht definierte Spontanmutationen zu Zytoskelettdefekten der Thrombozyten. Die hämorrhagische Diathese ist variabel.

Im Gegensatz zu den Makrothrombozytopenien handelt es sich beim X-chromosomal vererbten **Wiskott-Aldrich-Syndrom** (WAS) und der **X-chromosomalen Thrombozytopenie** (XLT) um mikrothrombozytäre Thrombozytopenien. Das WAS ist neben der Thrombozytenfunktionsstörung assoziiert mit einem schweren Immundefektsyndrom, ekzematösen Hauterkrankungen und dem gehäuften Auftreten myeloproliferativer Erkrankungen. Das defekte Gen kodiert das für die Hämatopoese relevante Protein WASP (Villa et al. 1995). Es ist von Bedeutung bei der Signalübertragung auf das Aktinzytoskelett und der Aktinfilamentbildung (Geddis u. Kaushansky 2004). Blutungskomplikationen (25%), schwere Infektionen (55%) und Malignome bestimmen die Lebenserwartung. Die allogene Stammzelltransplantation ist eine Therapieoption.

## Glanzmann-Thrombasthenie

**Definition**

Die Glanzmann-Thrombasthenie ist eine seltene autosomal rezessive Thrombozytopathie, verursacht durch qualitative oder quantitative Defekte des GP IIb-IIIa ($\alpha_{IIb}\beta_3$-Integrin). Dieser Rezeptor ist für die Bindung des Fibrinogens verantwortlich. Ein Defekt verhindert die Thrombozytenaggregation.

Die klinische Ausprägung kann sehr variabel sein. Einige Patienten haben nur minimale Schleimhautblutungen, während andere häufige und auch gefährliche Blutungen erleben. Typisch sind Hämatome, Nasenbluten, Zahnfleischblutungen, verstärkte Regelblutungen. Gastrointestinale Blutungen und Hämaturien sind eher selten. Bei den meisten Patienten treten die ersten Symptome bereits kurz nach der Geburt auf.

Im Labor lässt sich mit allen Induktoren keine Aggregation auslösen. Die Plättchenmorphologie und Thrombozytenzahl sind normal. Die Diagnose wird durch den Nachweis einer verminderten GP-IIb-IIIa-Expression z. B. mithilfe der Durchflusszytometrie gesichert.

Die Therapie sollte so gestaltet werden, dass das Risiko einer Alloimmunisierung gegen thrombozytäre oder HLA-Klasse-I-Antigene minimiert wird. Das bedeutet, dass zunächst immer lokale hämostyptische Maßnahmen und die Gabe von DDAVP vor der Transfusion von Thrombozytenkonzentraten versucht werden sollten, wenn Blutungen auftreten. In Vorbereitung elektiver Interventionen sollten HLA-kompatible Thrombozytenkonzentrate bereitgestellt werden. Die Gabe von rekombinantem Faktor VIIa (80 µg/kgKG in

2,5-stündigem Intervall) ist eine für diese Erkrankung zugelassene Alternative, die inzwischen bei ca. 140 Blutungsereignissen solcher Patienten angewandt wurde und in rund zwei Dritteln der Fälle erfolgreich war (Poon et al. 2004).

Trotz dieser schweren Thrombozytopathie ist die Prognose der Glanzmann-Thrombasthenie sehr gut, wenn die genannten Maßnahmen rechtzeitig eingesetzt werden (Nurden 2006).

### Andere Membran- und Rezeptordefekte

Beim seltenen **Scott-Syndrom** exprimieren die Thrombozyten aufgrund einer fehlenden Scramblase kein Phosphatidylserin auf der Zelloberfläche nach Aktivierung (Zwaal et al. 2004). Dies führt zu einer verminderten Thrombin- und Fibrinbildung auf der Thrombozytenoberfläche und bewirkt insbesondere nach Verletzungen und Operationen ein erhöhtes Blutungsrisiko. Spontanblutungen treten in der Regel nicht auf. Die gestörte Membranzusammensetzung lässt sich durchflusszytometrisch durch Annexin-V-Bindung darstellen.

Das **Stormorken-Syndrom** ist der entgegengesetzte Defekt zum Scott Syndrom. Hier wird bereits auf dem ruhenden Thrombozyten Phosphatidylserin exprimiert. Die Patienten zeigen dennoch keine erhöhte Thromboseneigung, sondern eine gering verstärkte Blutungsneigung. Vermutlich werden durch eine geringgradige spontane Gerinnungsaktivierung auf der Thrombozytenoberfläche einige der Rezeptoren deaktiviert.

Die Thrombozyten bei Patienten mit **Enyeart-Anomalie** zeigen keine Aggregationsdefekte, weisen aber geschichtete Einschlüsse aus Thrombozytenmembranen in den Thrombozyten auf. Ursache und Bedeutung sind unklar.

Patienten mit **fehlendem oder funktionell inaktivem GP VI** zeigen eine gestörte Aggregation mit Convulxin (einem GP-VI-Agonist) und Kollagen (Kojima et al. 2006; Moroi u. Jung 2004). Unter hohen Scherstressbedingungen können Thrombozyten keine großen Aggregate bilden, obwohl die primäre Adhäsion funktioniert. Ein GP-VI-Mangel führt zu einem gestörten Thrombuswachstum und darüber zu einer hämorrhagischen Diathese.

**ADP-Rezeptor-Defekt**: ADP wirkt an mehreren Rezeptoren. Einzelfallberichte zu je einer Familie gibt es über Mutationen des $P2Y_1$-Rezeptors (Oury et al. 1999) und des $P2X_1$-Rezeptors (Oury et al. 2000), wobei die Assoziation mit einer hämorrhagischen Diathese für die $P2X_1$-Rezeptor-Defizienz unklar blieb. Mutationen des $P2Y_{12}$-Rezeptors bewirken klinisch eine ähnliche Situation wie nach Gabe von Thienopyridinen mit reduzierter Aggregation um bis zu 70% und verlängerter Blutungszeit. Beeinträchtigt ist weniger der Formenwandel der Thrombozyten als die intrazelluläre Kalziummobilisation. Die ADP- und kollageninduzierte Aggregation (Remijn et al. 2007) und die ATP-Bildung durch Hemmung der Adenylatzyklase sind gestört (Cattaneo et al. 2006).

Beim **Von-Willebrand-Plättchentyp** ist GP Ibα an der vWF Bindungsstelle so mutiert, dass der vWF bereits bei geringen Scherkräften an die Thrombozyten des Patienten bindet. Dadurch kommt es sekundär zu einem Mangel der großen vWF-Multimere und zu einer Thrombozytopenie. Die Ristocetin- und spontane Aggregabilität der Thrombozyten ist erhöht. Patienten neigen zu Schlaganfällen und einer gleichzeitig bestehenden hämorrhagischen Diathese. Bei schweren Blutungen ist die Thrombozytensubstitution, nicht die vWF-Substitution Therapie der Wahl.

### Storage-Pool-Erkrankungen

#### α-Storage-Pool-Defekte

Beim **Gray-Platelet-Syndrom** (GPS) entsteht die Thrombozytopathie durch das Fehlen der thrombozytären α-Granula und ihrer Inhaltsstoffe. Die Patienten haben eine variabel ausgeprägte Thrombozytopenie mit vergrößerten Thrombozyten. Die Thrombozyten erscheinen in der May-Grünwald-Giemsa-Färbung beinahe ungefärbt bzw. grau. Häufig finden sich vergrößerte Vakuolen. Der Gendefekt ist ungeklärt. Die normale Freisetzung von Albumin und Immunglobulinen deutet aber darauf hin, dass wahrscheinlich der Transport der Granulainhaltsstoffe in die α-Granula gestört ist. Thrombin- und kollageninduzierte Thrombozytenaggregation sind in der Regel pathologisch, mit anderen Induktoren normal. Häufig findet sich bei diesen Patienten eine Osteomyelofibrose (Kunishima et al. 2005).

Auch bei der **Quebec-Thrombozytopathie** handelt es sich um eine Störung der α-Granula (McKay et al. 2004). Sie wird autosomal dominant vererbt. Es finden sich eine hohe Konzentration an u-Plasminogen-Aktivator in den Thrombozyten mit hoher fibrinolytischer Aktivität und degradierter Granulainhaltsstoffe. Typischerweise treten postoperative Blutungen erst 12–24 h nach dem Eingriff auf. Antifibrinolytische Therapien sind Mittel der Wahl, Thrombozytentransfusionen sind in der Regel wirkungslos.

Bei der ursprünglich als **Montreal-Platelet-Syndrom** beschriebenen Familie, mit Thrombozytopenie <20.000/µl und einer Reduktion der kalziumabhängigen, neutralen Proteinase Calpain, wurde in der Zwischenzeit eine Von-Willebrand-Erkrankung Typ IIB gesichert (Jackson et al. 2009).

Das **Jacobson/Paris-Trousseau-Syndrom** beschreibt eine Thrombozytopathie und Makrothrombozytopenie. Charakteristisch sind sehr große miteinander verschmolzene α-Granula in den Thrombozyten. Die Plättchenaggregation ist eingeschränkt. Beim **Jacobson-Syndrom** ist der Paris-Trousseau-Plättchenphänotyp assoziiert mit Fehlbildungen am Herzen, Trigonozephalie, Gesichtsdysmorphien, einer Kiefer-Gaumen-Spalte, Syndaktylie und psychomotorischer Retardierung. Bei dem genetischen Defekt handelt es sich um eine Deletionsmutation auf Chromosom

11q, die dazu führt, dass der Transkriptionsfaktor Fli-1 fehlt, der in der Megakaryozytopoese eine wichtige Rolle spielt (Geddis u. Kaushansky 2004).

### δ-Storage-Pool-Defekte

Hierunter ist eine sehr heterogene Gruppe von Störungen der dichten Granula der Thrombozyten zusammengefasst. In den dichten Granula werden ADP, ATP und Serotonin gespeichert, die während der Aktivierung freigesetzt werden und dadurch die Thrombozytenaktivierung verstärken. Es ist wahrscheinlich, dass verschiedene Defekte entweder zu einer Störung der Membranbildung führen oder Transporterproteine der Granulamembran betreffen, die aktiv die Substanzen in die Granula transportieren.

**! Die δ-Storage-Pool-Defekte sind die häufigsten Thrombozytopathien. Ungefähr 20% aller Patienten mit angeborenen Thrombozytenfunktionsstörungen haben Defekte der δ-Granula.**



Einige Formen werden dominant, andere rezessiv vererbt. Die Blutungsneigung ist geringgradig ausgeprägt, mit DDAVP kann in der Regel eine ausreichende Blutstillung erreicht werden. Die Aggregometrie mit ADP, Adrenalin und Kollagen kann eingeschränkt sein, bei ca. 30–40% der δ-Storage-Pool-Defekten ist die Aggregometrie nicht sensitiv genug, um den Defekt zu zeigen (Nieuwenhuis et al. 1987). In allen Fällen ist der Gehalt an Adeninnukleotiden vermindert und der ADP-ATP-Quotient der Thrombozyten deutlich erniedrigt. Der Serotoningehalt der Thrombozyten kann durch Immunfluoreszenztechniken (Mikroskopie der Granula und durchflusszytometrische Analyse des Serotoningehalts der Thrombozyten) untersucht werden (Maurer-Spurej et al. 2007).

Das **Hermansky-Pudlak-Syndrom** stellt eine autosomal rezessiv vererbte Stoffwechselerkrankung dar, die durch einen Tyrosinase-positiven okulokutanen Albinismus, Thrombozythopathie mit hämorrhagischer Diathese und durch Akkumulation von zeroidähnlichem Material in verschiedenen Geweben gekennzeichnet ist. Die interstitielle Lungenfibrose ist bei diesen Patienten die häufigste Todesursache. Morbus-Crohn-ähnliche Darmsymptomatik ist bei älteren Patienten aufgrund der Einlagerung der Zeroidsubstanzen in die Darmwand häufig.

### αδ-Storage-Pool-Defekte

Ein angeborener kombinierter Defekt der α- und δ-Granula ist sehr selten. Die Blutungsneigung scheint nicht stärker als bei den isolierten Granuladefekten zu sein.

Das **Chediak-Higashi-Syndrom** ist eine seltene autosomal rezessiv vererbte Erkrankung, die durch einen verschieden ausgeprägten okulokutanen Albinismus, eine erhöhte Anfälligkeit für bakterielle Infektionen, Neutropenie und hämorrhagische Diathese gekennzeichnet ist. Neben den δ-Granula sind auch die Lysosomen betroffen. Die Lebenserwartung ist stark abhängig von der Infektanfälligkeit und liegt häufig unter 10 Jahren. Inzwischen sind mehrere Mutationen bekannt.

Die symptomatische Therapie dieser Thrombozytopathien besteht in der Gabe von Desmopressin (DDAVP), Thrombozytenkonzentraten, ggf. Antifibrinolytika und/oder rekombinatem Faktor VIIa. In schweren Fällen ist die Knochenmarktransplantation eine Therapie mit Heilungschance.

## 30.3.2 Erworbene Thrombozytopathien

Systemerkrankungen wie die terminale Niereninsuffizienz, Leberinsuffizienz, myeloproliferative Erkrankungen, Dysproteinämien oder auch therapeutische Maßnahmen wie Operationen an der Herz-Lungen-Maschine oder extrakorporale Detoxikationsverfahren sind häufig mit komplexen Thrombozytenfunktionsstörungen assoziiert (► Kap. 30.9 und 34.4). Wenn Medikamente zur Anwendung kommen, die die Thrombozytenfunktion beeinflussen, sind unerwartete Blutungen häufige Komplikationen.

### Medikamenteninduzierte Thrombozytopathien

Medikamente wie Acetylsalicylsäure (ASS), Thienopyridine (Clopidogrel) und GP-IIb-IIIa-Antagonisten (Abciximab, Eptifibatide, Tirofiban) werden gezielt zur Hemmung der Thrombozytenfunktion insbesondere bei der Behandlung Gefäßerkrankungen eingesetzt. Andere wiederum werden zur Behandlung von Schmerzen, Entzündungen (nichtsteroidale Antiphlogistika) und psychischen Störungen (Antidepressiva vom Typ der Serotonin-Wiederaufnahmehemmer) angewendet.

Damit Risikopatienten für Blutungskomplikationen identifiziert werden können, sollte eine ausführliche Medikamentenanamnese vor elektiven operativen Eingriffen obligatorisch sein und den Zeitraum der vorangegangenen 14 Tage einschließen. Es gibt keinen Screeningtest, der alle medikamenteninduzierten Thrombozytenstörungen erfasst.

Die Pharmakokinetik der verschiedenen Substanzen und ihr Wirkspektrum bestimmen die Wirkdauer. Das Absetzen der Medikamente unter Berücksichtigung ihrer Indikation ist eine Einzelfallentscheidung. Ein zunehmendes Problem sind dabei Patienten mit Drug-eluting Stents mit einer Kombinantionstherapie von ASS und Clopidogrel, bei denen das Risiko einer In-Stent-Thrombose gegen das perioperative Blutungsrisiko individuell abgewogen werden muss.

Mit dem PFA-100 und der Standardaggregometrie lassen sich bestimmte medikamentinduzierte Effekte nachweisen. Dies gilt für eine ASS-induzierte Aggregationsstörung (Cattaneo 1999), und für Serotonin-Wiederaufnah-

mehemmer (Halperin u. Reber 2007). Dies gilt eingeschränkt für Clopidogrel und COX-2-Inhibitoren (de Meijer et al. 1999; Kottke-Marchant et al. 1999; Madan et al. 2001; Goldenberg et al. 2005).

**Acetylsalicylsäure (ASS).** Die Halbwertszeit (HWZ) ist mit 2 h sehr kurz, allerdings acetyliert ASS die Zyklooxygenase (COX) irreversibel und hemmt damit den ersten Schritt der Prostaglandinsynthese. Durch die blockierte Thromboxan-$A_2$-Produktion werden die Thrombozytenaggregation und Vasokonstriktion gehemmt. Dafür reicht bereits eine Dosis von 50–100 mg/Tag (COX-1-Hemmung). Das Blutungsrisiko im Alltag ist gering (0,3–1,7 pro 1.000 Patientenjahre). Die häufigste Nebenwirkung sind obere gastrointestinale Blutungen unter Low-Dose-Therapie. Das Risiko für eine stationäre Aufnahme wegen einer solchen Blutung war in einer großen Beobachtungsstudie um das 2,3-fache erhöht (Garcia Rodriguez et al. 1998). Mit einer Normalisierung der Thrombozytenfunktion ist nach Absetzen von ASS nach ca. 7 Tagen zu rechnen. Berücksichtigt werden kann, dass bei einer gesunden Megakaryozytopoese täglich ca. 7% der zirkulierenden Thrombozyten neu gebildet werden, deren Zyklooxygenase nicht gehemmt ist. Das erlaubt, kleinere invasive Eingriffe oder Punktionen bereits nach 2–3 Tagen ASS-Pause komplikationslos durchzuführen.

**Andere nichtsteroidale Antiphlogistika (NSAID).** Ibuprofen, Diclofenac, Indometacin, Naproxen, Piracetam, Piroxicam u. a. **nichtsteroidale Antiphlogistika** inhibieren COX-1 reversibel und in der Regel mit einem geringeren Antithrombozyteneffekt als ASS. Die Eliminationshalbwertszeit der einzelnen Substanzen variiert zwischen 2–4 h (Ibuprofen, Diclofenac), 10–18 h (Indometacin, Naproxen) bis 50 h (Piroxicam). Nach Absetzen dieser Substanzen kann mit einer Normalisierung der Thrombozytenfunktion je nach HWZ nach 1–5 Tagen gerechnet werden.

**Dipyridamol.** Dies ist ein kurz wirksamer Phosphodiesterasehemmer, dessen klinische antithrombotische Wirksamkeit und somit auch das Risiko für eine Thrombozytopathie als gering eingeschätzt werden. Im klinischen Alltag kann **Dipyridamol** jedoch in Kombination mit ASS zu Blutungen führen.

**Clopidogrel und Ticlopidin.** Thienopyridine sind selektive, irreversible ADP-Rezeptor-Antagonisten. Ticlopidin hat eine Halbwertszeit von 96 h, Clopidogrel von 8 h, die sich wegen seiner Umwandlung in einen wirksamen Metaboliten weiter verlängert. Nach Absetzen von Clopidogrel kann mit einer Normalisierung der Plättchenfunktion nach 7–10 Tagen gerechnet werden. Die frühere Regel, vor operativen Eingriffen die Therapie mit Cloidogrel mindestens 5 Tage, vorzugsweise 7–10 Tage zu unterbrechen, wird zunehmend kritisch diskutiert, da hierunter das Risiko für arterielle Gefäßverschlüsse v. a. bei Patienten mit »drug eluting stents« sehr stark ansteigen kann. Wenn operative Eingriffe durchgeführt werden, ohne dass Clopidogrel abgesetzt werden konnte, sollte eine Zeitspanne von 12–16 h nach der letzten Clopidogreleinnahme abgewartet werden, damit im Fall von bedrohlichen Blutungen Thrombozyten transfundiert werden können, ohne dass deren ADP-Rezeptor direkt wieder durch den aktiven Metaboliten des Clopidogrel blockiert wird.

**GP-IIb-IIIa-Rezeptorantagonisten.** Abciximab, Eptifibatide, Tirofiban sind derzeit zugelassene GP-IIb-IIIa-Rezeptorantagonisten. Sie führen zu einer vollständigen Hemmung der Thrombozytenaggregation. Sie imitieren das klinische Bild einer Glanzmann-Thrombasthenie. Die 3 verschiedenen Substanzen haben sehr unterschiedliche pharmakokinetische und -dynamische Eigenschaften, die insbesondere beim Auftreten von Blutungskomplikationen den Verlauf und die Prognose bestimmen. Abciximab bindet mit hoher Affinität an den Rezeptor und wird mehrfach »recycled«. Seine Wirkung lässt erst nach ca. 2 Tagen langsam nach, die von Tirofiban nach 4–8 h und von Eptifibatide nach ca. 4 h. Tirofiban und Eptifibatide binden reversibel an den GP-IIb-IIIa-Komplex. Sie werden daher im Überschuss gegeben. GP-IIb-IIIa-Inhibitoren können innerhalb der ersten 24 h nach Gabe des Medikamentes schwere Immunthrombozyopenien induzieren (0,3–1,6% der Patienten, bei Reexposition bei bis zu 4%). Im Falle von Blutungskomplikationen sind Thrombozytentransfusionen die einzige therapeutische Option.

**(Selektive) Serotonin-Wiederaufnahmehemmer (SSRI, Antidepressiva).** **Serotonin-Wiederaufnahme-Hemmer** (z. B. Citalopram, Fluoxetin, Fluvoxamin, Paroxetin, Sertralin) greifen als unerwünschte Wirkung negativ in den Amplifikationsmechanismus der Thrombozytenaggregation ein. Thrombozyten können Serotonin nicht selbst synthetisieren. Durch die Hemmung der Serotoninaufnahme in die thrombozytären Granula können die Thrombozyten ihre Speicher nicht mehr füllen, was einer erworbenen δ-Storage-Pool-Erkrankung gleichkommt. Blutungskomplikationen während operativer Eingriffe unter der Einnahme von SSRI (Meijer et al. 2004; Movig et al. 2003) sowie ein 2-fach erhöhtes Risiko für obere gastrointestinale Blutungen insbesondere unter selektiven SRI sind beschrieben worden (Dalton et al. 2003; de Abajo et al. 1999; van Walraven et al. 2001).

Aus der eigenen klinischen Erfahrung haben wir bei mehreren schwer kranken Intensivpatienten, die diese Medikamente während der Entwöhnungsphase von der Beatmung erhalten haben, teilweise lebensbedrohliche Blu-

tungen gesehen, die mit einer ausgeprägten Thrombozytopathie in der Aggregometrie nach Born assoziiert waren. Thrombozytentransfusionen von 2–3 Thrombozytenkonzentraten täglich über 7–10 Tage konnten die Blutungen kontrollieren.

Diese Antidepressiva haben eine HWZ von 50–70 h und werden teilweise noch in weiter wirksame Metaboliten umgewandelt, was die HWZ auf bis zu 7 Tage verlängert. Es ist daher davon auszugehen, dass frühestens 14 Tage nach Absetzen des Medikaments eine Normalisierung der Thrombozytenfunktion zu erwarten ist.

**! Wir empfehlen, insbesondere bei älteren Patienten mit Komorbiditäten, vor elektiven Eingriffen mit besonderem Blutungsrisiko (z. B. neurochirurgische Operationen) das Medikament mindestens 14 Tage zu pausieren bzw. gegen ein Antidepressivum mit anderem Wirkmechanismus auszutauschen.**



## Literatur


Balduini CL, Iolascon A, Savoia A (2002) Inherited thrombocytopenias: from genes to therapy. Haematologica 87 (8): 860–880

Cattaneo M (2006) Disorders of platelet function. Abnormalities of the platelet P2 receptors. Pathophysiol. Haemost Thromb 35 (1–2): 10–14

Cattaneo M, Lecchi A, Agati B, Lombardi R et al. (1999) Evaluation of platelet function with the PFA-100 system in patients with congenital defects of platelet secretion. Thromb Res 96 (3): 213–217

Dalton SO, Johansen C, Mellemkjaer L, Norgard B et al. (2003) Use of selective serotonin reuptake inhibitors and risk of upper gastrointestinal tract bleeding: a population-based cohort study. Arch Intern Med 163 (1): 59–64

de Abajo FJ, Rodriguez LA, Montero D (1999) Association between selective serotonin reuptake inhibitors and upper gastrointestinal bleeding: population based case-control study. BMJ 319 (7217): 1106–1109

de Meijer A, Vollaard H, de Metz M, Verbruggen B et al. (1999) Meloxicam, 15 mg/day, spares platelet function in healthy volunteers. Clin Pharmacol Ther 66 (4): 425–430

Dong F, Li S, Pujol-Moix N, Luban NL et al. (2005) Genotype-phenotype correlation in MYH9-related thrombocytopenia. Br J Haematol 130 (4): 620–627

Garcia Rodriguez LA, Cattaruzzi C, Troncon MG, Agostinis L (1998) Risk of hospitalization for upper gastrointestinal tract bleeding associated with ketorolac, other nonsteroidal anti-inflammatory drugs, calcium antagonists, and other antihypertensive drugs. Arch Intern Med 158 (1): 33–39

Geddis AE, Kaushansky K (2004) Inherited thrombocytopenias: toward a molecular understanding of disorders of platelet production. Curr Opin Pediatr 16 (1): 15–22

Goldenberg NA, Jacobson L, Manco-Johnson MJ (2005) Brief communication: duration of platelet dysfunction after a 7-day course of Ibuprofen. Ann Intern Med 142 (7): 506–509

Greinacher A (2005a) Spezielle Diagnostik bei Thrombozyopathien. In: Thomas L (eds) Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik, 6. Aufl. Frankfurt/Main: TH-Books Verlagsgesellschaft mbH; S 919–922

Greinacher A (2005b) Thrombozytendiagnostik. In: Thomas L (eds) Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik, 6. Aufl. Frankfurt/Main: TH-Books Verlagsgesellschaft mbH; S 907–909

Halperin D, Reber G (2007) Influence of antidepressants on hemostasis. Dialogues. Clin Neurosci 9 (1): 47–59

Jackson SC, Sinclair GD, Cloutier S, Duan X, Rand ML, Poon M-C (2009) Montreal platelet syndrome kindred has type 2B von Willebrand disease with the VWF V1316M mutation. Blood 113:3348–3351

Jurk K, Kehrel BE (2007) Inherited and acquired disorders of platelet function. Transfus Med Hemother 34: 6–19

Kojima H, Moroi M, Jung SM, Goto S et al. (2006) Characterization of a patient with glycoprotein (GP) VI deficiency possessing neither anti-GPVI autoantibody nor genetic aberration. J Thromb Haemost 4 (11): 2433–2442

Kottke-Marchant K, Powers JB, Brooks L, Kundu S et al. (1999) The effect of antiplatelet drugs, heparin, and preanalytical variables on platelet function detected by the platelet function analyzer (PFA-100). Clin Appl Thromb Hemost 5 (2): 122–130

Kunishima S, Matsushita T, Yoshihara T, Nakase Y et al. (2005) First description of somatic mosaicism in MYH9 disorders. Br J Haematol 128 (3): 360–365

Lubenow N, Warkentin TE, Greinacher A, Wessel A et al. (2006) Results of a systematic evaluation of treatment outcomes for heparin-induced thrombocytopenia in patients receiving danaparoid, ancrod, and/or coumarin explain the rapid shift in clinical practice during the 1990s. Thromb Res 117 (5): 507–515

Madan M, Berkowitz SD, Christie DJ, Jennings LK et al. (2001) Rapid assessment of glycoprotein IIb/IIIa blockade with the platelet function analyzer (PFA-100) during percutaneous coronary intervention. Am Heart J 141 (2): 226–233

Maurer-Spurej E, Pittendreigh C, Wu JK (2007) Diagnosing platelet delta-storage pool disease in children by flow cytometry. Am J Clin Pathol 127 (4): 626–632

McKay H, Derome F, Haq MA, Whittaker S et al. (2004) Bleeding risks associated with inheritance of the Quebec platelet disorder. Blood 104 (1): 159–165

Meijer WE, Heerdink ER, Nolen WA, Herings RM et al. (2004) Association of risk of abnormal bleeding with degree of serotonin reuptake inhibition by antidepressants. Arch Intern Med 164 (21): 2367–2370

Moroi M, Jung SM (2004) Platelet glycoprotein VI: its structure and function. Thromb Res 114 (4): 221–233

Movig KL, Janssen MW, de Waal MJ, Kabel PJ et al. (2003) Relationship of serotonergic antidepressants and need for blood transfusion in orthopedic surgical patients. Arch Intern Med 163 (19): 2354–2358

Nichols KE, Crispino JD, Poncz M, White JG et al. (2000) Familial dyserythropoietic anaemia and thrombocytopenia due to an inherited mutation in GATA1. Nat Genet 24 (3): 266–270

Nieuwenhuis HK, Akkerman JW, Sixma JJ (1987) Patients with a prolonged bleeding time and normal aggregation tests may have storage pool deficiency: studies on one hundred six patients. Blood 70 (3): 620–623

Noris P, Pecci A, Di Bari F, Di Stazio MT et al. (2004) Application of a diagnostic algorithm for inherited thrombocytopenias to 46 consecutive patients. Haematologica 89 (10): 1219–1225

Nurden AT (2006) Glanzmann thrombasthenia. Orphanet. J Rare Dis 1 (1): 10

Oury C, Lenaerts T, Peerlinck K, Vermylen J et al. (1999) Congenital deficiency of the phospholipase C coupled platelet P2Y1 receptor leads to a mild bleeding disorder. Thromb Haemost 85 (suppl.) 20 [Abstract]

Oury C, Toth-Zsamboki E, Van Geet C, Thys C et al. (2000) A natural dominant negative P2X1 receptor due to deletion of a single amino acid residue. J Biol Chem 275 (30): 22611–22614

Ozelo MC, Svirin P, Larina L (2005) Use of recombinant factor VIIa in the management of severe bleeding episodes in patients with Bernard-Soulier syndrome. Ann Hematol 84 (12): 816–822

Poon MC, D'Oiron R, Von Depka M, Khair K et al. (2004) Prophylactic and therapeutic recombinant factor VIIa administration to patients with Glanzmann's thrombasthenia: results of an international survey. J Thromb Haemost 2 (7): 1096–1103

Remijn JA, IJsseldijk MJ, Strunk AL, Abbes AP et al. (2007) Novel molecular defect in the platelet ADP receptor P2Y12 of a patient with haemorrhagic diathesis. Clin Chem Lab Med 45 (2): 187–189

Selleng K, Lubenow LE, Greinacher A, Warkentin TE (2007) Perioperative management of MYH9 hereditary macrothrombocytopenia (Fechtner syndrome). Eur J Haematol 79 (3): 263–268

Seri M, Pecci A, Di Bari F, Cusano R et al. (2003) MYH9-related disease: May-Hegglin anomaly, Sebastian syndrome, Fechtner syndrome, and Epstein syndrome are not distinct entities but represent a variable expression of a single illness. Medicine (Baltimore) 82 (3): 203–215

van Walraven C, Mamdani MM, Wells PS, Williams JI (2001) Inhibition of serotonin reuptake by antidepressants and upper gastrointestinal bleeding in elderly patients: retrospective cohort study. BMJ 323 (7314): 655–658

Villa A, Notarangelo L, Macchi P, Mantuano E et al. (1995) X-linked thrombocytopenia and Wiskott-Aldrich syndrome are allelic diseases with mutations in the WASP gene. Nat Genet 9 (4): 414–417

Zwaal RF, Comfurius P, Bevers EM (2004) Scott syndrome, a bleeding disorder caused by defective scrambling of membrane phospholipids. Biochim. Biophys. Acta 1636 (2–3): 119–128

## 30.4 Angeborener Faktorenmangel

*J. Oldenburg, K. Madlener, B. Pötzsch*



Ein angeborener Mangel an einem Gerinnungsfaktor kann zu einer Störung der plasmatischen Gerinnungsaktivität mit einer eingeschränkten Thrombin- und Fibrinbildung führen. In Abhängigkeit vom Ausmaß der Aktivitätsverminderung besteht eine lebenslange Blutungsneigung. Bei schweren Formen treten Spontanblutungen auf, während bei mittelschweren und milden Formen Blutungskomplikationen meist auf Risikosituationen beschränkt bleiben.

Die häufigsten hereditären Faktorenmängel sind die X-chromosomal vererbten Hämophilien A und B, denen eine Synthesestörung von Faktor VIII und Faktor IX zugrunde liegt. Wesentlich seltener treten angeborene Aktivitätseinschränkungen der anderen Gerinnungsfaktoren auf.

Eine Therapie der Blutungsneigung ist durch Substitution des Gerinnungsfaktors möglich. Therapietrigger sind die Schwere der Blutungsneigung. Für die häufigen Formen stehen aus Plasma gereinigte Faktorenkonzentrate oder rekombinant hergestellte Faktorenkonzentrate zur Verfügung. Der seltene Faktor-V-Mangel, kann nur durch die Substitution mit Plasma behandelt werden.

### Einleitung und Definition

Das plasmatische Gerinnungssystem ist ein Multienzymsystem, dessen Reaktionsabläufe einer intravasalen Signalkaskade vergleichbar sind, die durch eine Gefäßverletztung aktiviert wird und deren Endprodukte die Thrombin- und Fibrinbildung darstellen (► Kap. 14). Ein Aktivitätsverlust einzelner Komponenten dieses Multienzymsystems kann zu einer Beeinträchtigung der Thrombin- und Fibrinbildung führen. Daraus kann eine Blutungsneigung resultieren, deren Schweregrad von dem Ausmaß des Aktivitätsverlusts abhängig ist.

**Definition**

Ein Mangel an einem Gerinnungsfaktor liegt vor, wenn die Faktorenaktivität unterhalb des Referenzbereichs liegt.

Ein häufig verwendeter Grenzwert errechnet sich aus dem Abzug der 3-fachen Standardabweichung des Referenzbereichs vom Mittelwert (x–3s). Das führende klinische Symptom des Faktorenmangels ist die Blutung. Das Blutungsrisiko ist abhängig von der Art des Faktorenmangels und der vorhandenen Restaktivität. Entsprechend des Blutungsrisikos und der Restaktivität wird zwischen einem klinisch nicht relevanten Faktorenmangel und leichten, mittelschweren und schweren Verlaufsformen unterschieden.

Diagnostisch beweisend ist die erniedrigte Faktorenaktivität, die in mindestens zwei voneinander unabhängigen Untersuchungen bei gleichzeitigem Ausschluss einer erworbenen Ursache bestätigt werden sollte. Der Mutationsnachweis und eine erkennbare genetische Disposition können die Diagnose eines hereditären Faktorenmangels bestätigen.

Auslösende Mutationen können im kodierenden Genbereich oder in einem nichtkodierenden Bereich, wie z. B. der Promotorregion, lokalisiert sein. Seltener sind angeborene posttranslationale Störungen oder angeborene Störungen, die den Metabolismus des Gerinnungsfaktors betreffen Ursachen eines Faktorenmangels.

## 30.4.1 Hämophilie A/Faktor-VIII-Mangel und Hämophilie B/Faktor-IX-Mangel

### Epidemiologie und Genotypen

Der Faktor-VIII- und der Faktor-IX-Mangel werden X-chromosomal vererbt. Die Häufigkeit der Hämophilie A wird mit 1:5.000 männliche Neugeborene und die der Hämophilie B mit 1:30.000 männliche Neugeborene angegeben (Tuddenham 1994). Damit ist die Hämophilie A nach der Von-Willebrand-Erkrankung (▶ Kap. 30.6) die zweithäufigste angeborene plasmatische Gerinnungsstörung.



### Hämophilie A

Die Vielfalt der Mutationen bei der Hämophilie A ist groß. In ◘ Tab. 30.13 ist ein für die schwere Verlaufsform der Hämophilie A repräsentatives Profil der Mutationen aufgelistet.

Die häufigste Mutation mit einem Anteil von fast 50% ist die Intron-22-Inversion. Sie beruht auf einer intragenen Rekombination des FVIII-Gens, die zwischen einem 9 kb großen Bereich des Introns 22 und 2 diesem Bereich identischen Kopien, die am Telomerende des X-Chromosoms liegen, stattfindet. Dieses Mutationsprinzip ist bisher nur für sehr wenige Gene beschrieben worden. Bei der Hämophilie A ist es eine der wesentlichen Gründe für die hohe Neumutationsrate und damit für die relative Häufigkeit der Erkrankung. Hinzu kommt, dass die Intron-22-Inversionen ihren Ursprung ganz überwiegend in männlichen Keimzellen haben, da in der Meiose weiblicher Keimzellen die homologe Paarung der X-Chromosomen die intragene Rekombination erschwert. Da auch Punktmutationen bevorzugt in den männlichen Keimzellen entstehen, haben die meisten Mutationen ihren Ursprung in männlichen Keimzellen.

**◘ Tab. 30.13.** Mutationsprofil bei Patienten mit schwerer Hämophilie A

| Mutationstypen innerhalb der FVIII-c-DNA | Prävalenz [%] |
|---|---|
| Intron-22-Inversionen | 49,2 |
| Intron-1-Inversionen | 1,2 |
| Stopp-Mutationen | 12,8 |
| Missense-Mutationen | 12,7 |
| Kleine Deletionen bzw. Insertionen | 14,1 |
| Große Deletionen bzw. Insertionen | 4 |
| Splicestellenmutationen | 3,5 |
| Keine Mutationen in der FVIII-cDNA | 1,5 |

Weitere wichtige Mutationstypen mit einem Anteil von jeweils 10–15% sind Stopp-(Nonsense-)Mutationen, die zu einem Abbruch der Proteintranslation führen, des Weiteren Aminosäureaustausch (Missense)-Mutationen und kleine Deletionen oder Insertionen, bei denen einzelne Nukleotide fehlen oder zusätzlich eingefügt werden. Zwei besonders für Mutationen anfällige Stellen (»hot spots«) sind:
- die 70-CpG-Dinukleotide des FVIII-Gens, bei denen etwa 40% aller Nonsense- und Missense-Mutationen entstehen,
- 2 Serien von 8 bzw. 9 Adeninnukleotiden im Exon 14, die für etwa 25% aller kleinen Deletionen und Insertionen ursächlich sind.

Andere Mutationstypen wie große Deletionen, Splicestellenmutationen und die Intron-1-Inversionen sind vergleichsweise seltene Ereignisse (1,5–4,0%). Bei den weniger schweren Verlaufsformen kommen fast ausschließlich Missense-Mutationen vor. Alle bisher publizierten Mutationen sind in einem internationalen Mutationsregister aufgeführt (http://europium.csc.mrc.ac.uk).

Abgesehen von den oben erwähnten Mutations-Hot-Spots verteilen sich die Gendefekte über das gesamte FVIII-Gen, lediglich Missense-Mutationen kommen im mittleren Bereich der B-Domäne praktisch nicht vor. Offensichtlich führen Missense-Mutationen in diesem Bereich nicht zu einem hämophilen Phänotyp.

Bei etwa 1,5% der Patienten werden keine Mutationen in der FVIII-cDNA gefunden. Hier muss angenommen werden, dass bei diesen Patienten entweder Mutationen in nicht kodierenden FVIII-Genbereichen vorliegen oder aber andere Gene betroffen sind, welche für Proteine kodieren, die mit dem FVIII zu irgendeinem Zeitpunkt während der Synthese, Sekretion, Funktion oder Inaktivierung (Clearance) interagieren.

### Hämophilie B

Im Gegensatz zur Hämophilie A sind die meisten Mutationen bei der Hämophilie B Nukleotidaustausche, die zu Missense-Mutationen (68%) und Nonsense-Mutationen (14%) führen. Alle anderen Mutationsarten sind selten und weisen Häufigkeiten von unter 5% auf. Die verschiedenen Mutationen sind in einem internationalen Mutationsregister verfügbar (http://www.umds.ac.uk/molgen/haemBdatabase.htm). Wegen seiner geringen Größe ist die Komplettsequenzierung die Methode der Wahl für die Mutationsdiagnostik.

Der FIX-Leiden-Phänotyp ist eine interessante Besonderheit der Hämophilie B. Diese Patienten werden mit einer

schweren Verlaufsform der Hämophilie B geboren. Nach der Pubertät steigt die FIX-Aktivität jedoch auf Werte über 10–20% an, sodass die Patienten nur noch eine leichte Verlaufsform aufweisen (Briet et al. 1982). Ursächlich für diesen Phänotyp sind Mutationen in einem 40 bp großen Bereich im FIX-Promotor. Dieser Abschnitt ist wichtig für die Bindung von Steroidhormonen, wie z. B. Androgenen, durch welche die FIX-Expression ganz erheblich gesteigert werden kann (Kurachi et al. 1994).

Einen anderen Phänotyp weisen Patienten auf, die Mutationen im FIX-Propeptid an den Aminosäurepositionen -10 (Ala zu Val, Ala zu 10Thr) und -9 (Asn zu Lys) besitzen. Während diese Patienten normalerweise eine ungestörte Gerinnung haben, führt ein Vitamin-K-Mangel (z. B. im Rahmen einer Antikoagulationstherapie mit Marcumar) zu einer schweren Hämophilie B (Oldenburg et al. 1997).

### Pathophysiologie

Die aktivierten Faktoren IX (FIXa) und VIII (FVIIIa) sind als Enzym (FIXa) und geschwindigkeitsbestimmender Kofaktor (FVIIIa) essenzielle Komponenten des Tenasekomplexes. Eine Aktivitätsminderung eines dieser Faktoren schränkt die katalytische Aktivität des Tenasekomplexes ein. Die daraus resultierende verminderte FXa-Generierung beeinträchtigt die Verstärkung der Thrombinbildung. Nach zunächst normal verlaufender initialer Thrombinbildung ist durch die fehlende Amplifikation die Thrombinbildung nicht ausreichend, um ein stabiles Gerinnsel auszubilden (▶ Kap. 16 und 18).

### Laboranalytischer Phänotyp

Die Erniedrigung der FVIII/IX-Aktivität manifestiert sich in einer verlängerten APTT (aktivierte partielle Thromboplastinzeit) und einer erniedrigten Einzelfaktoraktivität, die mit einem Mangelplasma oder durch Einsatz von Peptidsubstraten gemessen werden kann. Die Blutungszeit von Patienten mit Hämophilie A oder B ist aufgrund der initial nicht gestörten Thrombinbildung nicht verlängert.

In der Mehrzahl der Hämophilie-A-Patienten korrelliert die erniedrigte Aktivität mit einer Erniedrigung des FVIII-Antigens. Demgegenüber ist ein Syntheseausfall bei Hämophilie-B-Patienten selten. Die meisten Patienten bilden ein funktionsgestörtes FIX-Molekül, sodass die Aktivitätswerte deutlich niedriger als die Antigenwerte liegen.

### Klinischer Phänotyp

Entsprechend der Faktoraktivität werden die Hämophilien A und B in 3 Schweregrade eingeteilt:

- milde Form: <30%,
- mittelschwere: <5%
- schwere Form: ≤1%.

Die schwere Hämophilie mit einer Restaktivität von <1% zeichnet sich durch eine ausgeprägte Blutungsneigung aus. Die Patienten haben eine Neigung zu Spontanblutungen. Man geht von etwa 20–30 Blutungsepisoden pro Jahr aus (Aledort et al. 1994). Die Frequenz der Blutungen ist dabei vom Lebensalter, exogener Risikoexposition und eventuellen Begleiterkrankungen abhängig. Zu den typischen Blutungslokalisationen gehören Gelenk- und Muskelblutungen, subkutane Hämatome und eine Hämaturie. Besonders in der Kindheit und der frühen Adoleszenz sind intraartikuläre Blutungen eine häufig auftretende Komplikation. Vor allem Knie-, Ellenbogen- und Sprunggelenke sind betroffen.

**! Wiederholte Blutungen in dasselbe Gelenk bewirken eine reaktive, chronische Synovitis. Dadurch wird die Blutungsneigung weiter verstärkt, was schließlich zu einer Arthropathie führen kann, die eine erhebliche Beeinträchtigung der Lebensqualtität der Patienten zur Folge hat (Aledort et al. 1994; Mannucci 2008a).**

Die mittelschwere Hämophilie ist durch eine Restaktivität von 1% bis 5% definiert. Die Blutungsbereitschaft ist weniger ausgeprägt, bei Restaktivitäten >3% treten Gelenkblutungen nur selten auf.

Die milde Hämophilie hat eine Restaktivität zwischen 5 und 15%, die Subhämophilie von 15–50%. Patienten mit einer milden Hämophilie bluten meist nur in Risikosituationen, wie z. B. operativen Eingriffen oder Verletzungen.

### Therapie

Therapeutische Optionen zur Behandlung der Hämophilie A/B beinhalten lokale blutstillende Maßnahmen und die Substitution mit Faktor-VIII/IX-Konzentraten (Mannucci 2008a). Zur Verfügung stehen aus Plasma gereinigte und rekombinant hergestellte Konzentrate. Das Risiko einer Übertragung von Krankheitserregern durch aus Plasma gereinigten Konzentraten wird durch eine Virustestung und durch Virusinaktivierungsverfahren reduziert. Dadurch sind die aus Plasma gereinigten Konzentrate wahrscheinlich in ihrer Sicherheit den rekombinanten Präparaten vergleichbar. Lediglich ein theoretisches Restrisiko in Bezug auf neue Viren oder Versagen der Virusinaktivierung verbleibt bei den aus Plasma hergestellten Faktorenkonzentraten.

Die DDAVP-Stimulationstherapie ist eine weitere Therapieoption zur Behandlung und Prophylaxe von kleineren Blutungen bei Patienten mit leichter und mittelschwerer Hämophilie A. Bei bedrohlichen Blutungen oder zur Vorbereitung von großen operativen Eingriffen ist die DDAVP-Behandlung meist nicht ausreichend.

Die Dosierung von Faktorenkonzentraten bei Auftreten von Blutungskomplikationen ist altersabhängig und abhängig von der Art der Blutung. In Tab. 30.14 sind die Empfehlungen der Bundesärztekammer zur Therapie mit Fak-

**Tab. 30.14.** Hämophilie A und B (nach den Richtlinien der Bunderärztekammer 2008)

| Indikation/Blutungstyp | Mittlere Initialdosis (E/kgKG) | |
|---|---|---|
| | Kinder | Erwachsene |
| Lebensbedrohliche Blutung | 80–100 | 50–80 |
| Gelenk- und Muskelblutungen | 30–40 | 20–40 |
| Schleimhautblutungen | | |
| – Epistaxis | Keine Empfehlung vorgegeben | 30–60 |
| – Gatrointestinale Blutungen | | 20–40 |
| – Hämaturie | | 20–40 |
| Operation mit großen Wundflächen | 80–100 | 50–80 |
| Operation mit kleinen Wundflächen | 50–100 | 25–40 |

30

torenkonzentraten zusammengefasst. Die Substitutionsintervalle richten sich nach der Klinik und schwanken zwischen 6 und 12 h. Die Therapie wird bis zum Abklingen der blutungsbedingten Symptomatik fortgeführt.

### Prophylaxe

Für Kinder mit schwerer Hämophilie konnte der Nutzen einer Primärprophylaxe durch regelmäßige Faktorsubstitution in Studien belegt werden (Manco-Johnson 2007). Die Prophylaxe sollte spätestens nach der ersten Gelenkblutung beginnen und bis zum Ende des Wachstums fortgeführt werden. Richtgrößen für die FVIII-Substitution sind 3-mal wöchentlich 20–30 E/kgKG. Bei Hämophilie-B-Patienten werden die Intervalle aufgrund der längeren Halbwertszeit bei gleicher Dosierung von FIX verlängert. Die Dosierung ist der klinischen Situation und dem Alter anzupassen. Im Erwachsenenalter kann die Dauerbehandlung indiziert sein, wenn die Gefahr irreversibler Schäden bei Rezidivblutungen besteht (Plug 2004).

Die ärztlich kontrollierte Selbstbehandlung zu Hause durch den Patienten gehört heute zum Standard der Behandlung der schweren Hämophilie. Alle Patienten mit schwerer Hämophilie und deren Eltern sollten über mögliche Blutungssymptome aufgeklärt und in die Indikationsstellung, die technische Aufbereitung des Faktorenkonzentrats und die Injektionstechnik eingeführt werden. Gleichzeitig werden Dosierungsrichtlinien vereinbart und die möglichen Nebenwirkungen und eventuell erforderlichen Maßnahmen besprochen. Dem Patienten wird zu Hause ein Depot eines Faktorenkonzentrats angelegt. Über Blutungen, Faktorenverbrauch, klinischer Erfolg der Substitutionsbehandlung und das Depot wird ein genaues Protokoll geführt. Patient und Hämophiliezentrum stehen in engem Kontakt.

## 30.4.2 Faktor-VII-, Faktor-X- und Faktor-II-Mangel

### Epidemiologie und Genotypen

Ein angeborener Mangel an den Gerinnungsfaktoren VII, X oder II ist ein selten auftretendes Ereignis. Nach Schätzungen liegt die Häufigkeit für das Auftreten eines Mangels an einem dieser Faktoren bei etwa 1:500.000 Geburten (Roberts 2005). Der Erbmodus ist autosomal rezessiv. Klinisch-symptomatische Patienten sind entweder homozygot oder doppelt heterozygot betroffen (Oldenburg u. Schwab 2001).

**Faktor VII.** Das FVII-Gen ist auf Chromosom 13 in unmittelbarer Nachbarschaft zum FX-Gen lokalisiert. Ein bisher noch nicht genauer charakterisiertes regulatorisches Element, das die FVII-Expression beeinflusst, ist auf Chromosom 8 lokalisiert (Fagan et al. 1988).

Beim FVII-Mangel dominieren Mutationstypen, die zur Bildung eines dysfunktionellen FVII-Moleküls führen (Tuddenham et al. 1995; McVey et al. 2001). Eine Zusammenfassung der bisherigen FVII-Genotypen findet sich im Internet unter http://europium.csc.mrc.ac.uk. Neben den Mutationen im kodierenden Bereich sind eine Reihe von Polymorphismen beschrieben, die zu verminderten Plasmaspiegeln von FVII führen (Perry 2002).

**Faktor X.** Das FX-Gen ist genauso wie das FVII-Gen auf Chromosom 13 lokalisiert und zeigt eine mit dem FVII- und FIX-Gen vergleichbare Genarchitektur. Mutationen können alle Genbereiche betreffen. Besonders häufig finden sich Missense-Mutationen, die zur Synthese eines dysfunktionellen FX-Moleküls führen. Eine Zusammenstellung über die beschriebenen Mutationstypen findet sich unter http://archive.uwcm.ac.uk/uwcm/mg/hgmd0.html.

**Faktor II (Prothrombin).** Das 24 Kilobasen umfassende Prothrombingen ist auf Chromosom 11 lokalisiert und umfasst 14 Exonstrukturen. Bisher sind verschiedene Mutationen beschrieben worden, die zu einer Reduktion der Syntheserate oder zur Bildung eines dysfunktionellen Proteins führen.

### Pathophysiologie

**Faktor VII.** Durch Bindung an Tissue Factor (TF) bildet FVIIa den extrinsischen Aktivierungskomplex, der FX aktiviert und dadurch die initiale Thrombinbildung einleitet. Zusätzlich aktiviert der FVIIa-TF-Komplex FIX. Eine verminderte FVII-Aktivität beeinträchtigt deswegen die initiale Thrombinbildung genauso wie die anschließende Verstärkung der Thrombinbildung durch den Tenasekomplex. Im Unterschied zu den anderen Gerinnungsfaktoren zirkuliert ein Teil des im Plasma vorkommenden FVII bereits in der aktiven Form. Dieser bereits aktivierte FVII, dessen Anteil bei Gerinnungsgesunden etwa 1% des zirkulierenden FVII beträgt, ist für die

Gerinnungsaktivierung besonders wichtig, da er die Bildung des FVIIa-TF-Komplexes ermöglicht. Bei einem FVII-Mangel nimmt die Konzentration von FVIIa nicht proportional zur FVII-Gesamtkonzentration ab, sondern nimmt relativ gesehen zu und ist damit in absoluter Konzentration vergleichbar der Situation beim Gerinnungsgesunden.

**Faktor X.** Aktivierter FX ist das aktive Enzym im Prothrombinasekomplex. Eine verminderte FX-Aktivität kann deswegen unmittelbar die Thrombinbildung beeinträchtigen.

**Faktor II (Prothrombin).** Thrombin ist das Zentralenzym der plasmatischen Gerinnungskaskade mit verschiedensten prokoagulatorischen Funktionen. Es katalysiert die Fibrinbildung, aktiviert FXIII, verstärkt die Gerinnungsaktivierung durch Aktivierung weiterer Gerinnungsfaktoren, zu denen FXI und die Kofaktoren V und VIII gehören. Außerdem ist es ein wichtiger Thrombozytenaktivator. Ein Prothrombinmangel mit einer daraus resultierenden verminderten Thrombinbildung und -aktivität beeinträchtigt daher auf verschiedenen Ebenen die Gerinnungsreaktion und induziert eine Blutungsneigung.

### Laboranalytischer Phänotyp

**Faktor VII.** Der FVII-Mangel manifestiert sich in einer Erniedrigung des Quick-Werts, während die APTT im Referenzbereich liegt. In der Einzelfaktorbestimmung ist die FVII-Aktivität vermindert. Die FVII-Aktivität ist meist stärker reduziert als das FVII-Antigen, da die Mehrzahl der Patienten ein funktionell gestörtes FVII-Molekül synthetisieren. In Abhängigkeit vom Schweregrad des FVII-Mangels kann die FVIIa-Konzentration erniedrigt sein. Bei Patienten mit einer klinisch-relevanten Blutungsneigung ist die Blutungszeit meist verlängert.

**Faktor X und II.** Bei beiden Mangelerkrankungen findet sich eine Verlängerung der APTT und der Thromboplastinzeit (Erniedrigung des Quick-Werts). Eine Differenzierung zwischen beiden Faktormangelerkrankungen erfolgt durch Einzelfaktorenanalyse. In der Mehrzahl der Fälle wird ein dysfunktionelles Protein synthetisiert, sodass die Faktorenaktivität stärker erniedrigt ist als das entsprechende Antigen. Bei Patienten mit einer klinisch-relevanten Blutungsneigung ist die Blutungszeit meist verlängert.

### Klinischer Phänotyp

Die Blutungsneigung ist bei allen 3 Faktormangelerkrankungen individuell sehr unterschiedlich ausgeprägt.

> **! Eine Genotyp-Phänotyp-Korrelation besteht in der Regel nicht, sodass aus der Art der Mutation kein Rückschluss auf die klinische Gefährdung gezogen werden kann.**

**Faktor-VII-Mangel.** Spontane Blutungen können beim schweren FVII-Mangel mit Restaktivitäten <5% auftreten. Es kommt gehäuft zu Schleimhautblutungen, Weichteilblutungen und Muskelblutungen. Vereinzelt wurden auch intraartikuläre Blutungen beschrieben. Bei Restaktivitäten >5% dominieren durch exogene Faktoren ausgelöste Blutungen, wie z. B. verlängerte Nachblutungen nach kleineren Verletzungen oder operativen Eingriffen. Patienten mit Restaktivitäten >20% sind in der Regel klinisch asymptomatisch.

**Faktor-X- und -II-Mangel.** Eine verstärkte Blutungsneigung tritt bei Restaktivitäten <20% auf. Der Blutungstyp entspricht dem des FVII-Mangels und ist durch verlängerte Nachblutungen nach kleineren Verletzungen und operativen Eingriffen gekennzeichnet. Bei schweren Mangelerkrankungen mit Aktivitäten <10% treten Spontanblutungen gehäuft auf.

### Therapie

Blutungskomplikationen erfordern eine Anhebung der Aktivität des betroffenen Gerinnungsfaktors. Im Fall des FVII-Mangels steht dazu ein aus Plasma gereinigtes FVII-Konzentrat und das rekombinant hergestellte FVIIa-Konzentrat zur Verfügung. Die Wirksamkeit des rFVIIa-Konzentrats ist in klinischen Studien belegt.

Rekombinanter FVIIa wird bei akuten Blutungen in einer Dosierung von 15–30 µg/kgKG (20 µg=1 KIE) verabreicht. Bis zum Sistieren der Blutung sollte die rFVIIa-Substitution alle 2–6 h wiederholt werden. Danach können die Intervalle verlängert werden. Aus Plasma gereinigter FVII wird in einer initialen Dosierung von 50 E/kgKG verabreicht. Die Substitutionsintervalle entsprechen denen der rFVIIa-Substitution.

Zur Behandlung des Faktor-X- und Prothrombinmangels steht kein Einzelfaktorenkonzentrat zur Verfügung. Allerdings gibt es zur Behandlung des FX-Mangels ein FIX-FX-Konzentrat (Faktor X P Behring). Ansonsten ist eine Substitution durch die Gabe eines Prothrombinkomplexpräparates möglich. Die gewählte Dosierung ist abhängig von der Art des eingesetzten PPSB, da die einzelnen PPSB-Präparate sich in der Konzentration an Faktor X und Prothrombin unterscheiden (▶ Kap. 50.4). Blutungskomplikationen beim FX-Mangel werden mit initialen Dosierungen von 50–100 IE/kgKG behandelt. In der Regel ist eine einmal tägliche Gabe ausreichend. Im Fall des Prothrombinmangels wird eine initiale Dosierung von 50–100 IE/kgKG gewählt. Auch hier ist die einmal tägliche Gabe in der Regel ausreichend.

Zur Prophylaxe von Blutungen bei elektiven Eingriffen wird eine Substitution unmittelbar präoperativ empfohlen, deren Dosierung so gewählt ist, dass zum Zeitpunkt des Eingriffs die Faktorenaktivität normalisiert ist. Häufigkeit und Dosierung nachfolgender Subsitutionen sind abhängig

von der Art und Dauer des Eingriffs sowie von der postoperativen Blutungsgefährdung. Bei Eingriffen mit niedrigem Blutungsrisiko ist die Indikation zur Subsitution von der Restaktivität und der Blutungsanamnese abhängig. Bei negativer Blutungsanamnese und einer Restaktivität >20% beim FII- bzw. FX-Mangel und beim FVII-Mangel ist keine Substitution erforderlich. In diesen Fällen sollte jedoch vor Operationsbeginn die Verfügbarkeit von Faktorenkonzentraten geprüft werden.

## 30.4.3 Kombinierter Mangel an den Vitamin-K-abhängigen Faktoren II, VII, IX und X

### Epidemiologie und Genotyp

Der kombinierte Mangel aller Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren ist eine sehr seltene Erkrankung. Angaben zur Häufigkeit sind nicht verfügbar. Ausgelöst wird dieser kombinierte Faktorenmangel durch eine Störung des Vitamin-K-Stoffwechsels, die das Enzym VKORC1 oder die γ-Carboxylase betreffen kann (Oldenburg et al. 2000, 2004).

### Pathophysiologie

Durch die Aktivitätsverminderung der Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren ist die Thrombinbildung reduziert.

> **! Bereits die initiale Thrombinbildung ist gestört, sodass keine verletzungsadäquate Aktivierung des plasmatischen Gerinnungssystems erfolgen kann.**

Insgesamt kommt es zu einer verminderten Thrombinbildung mit einer gestörten Fibrinbildung, einer reduzierten Aktivierung der Thrombozyten und einer eingeschränkten retrograden Aktivierung weiterer Gerinnungsfaktoren.

### Laboranalytischer Phänotyp

Die APTT ist verlängert, der Quick-Wert erniedrigt. Die Aktivität aller Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren ist reduziert. Die Konzentration an PIVKA-Faktoren (»proteins induced bei vitamin k antagonists«) ist erhöht. Diagnostisch beweisend ist der Nachweis einer Mutation im VKORC1-Gen oder im Gen der γ-Carboxylase.

### Klinischer Phänotyp

Es besteht eine Blutungsneigung, die mit der Erniedrigung des Quick-Werts korreliert. Bei schweren Verläufen sind spontane Blutungen häufig. Blutungskomplikationen treten bereits im frühen Lebensalter, typischerweise perinatal auf. Durch rezidivierende intrazerebrale Blutungen kann es zu Behinderungen und Entwicklungsverzögerungen kommen. Bei einigen Fällen wurden zusätzlich zu den Gerinnungsstörungen auch andere Entwicklungsanomalien und Osteopathien beschrieben.

### Therapie

Akute Blutungskomplikationen werden durch die Substitution mit PPSB behandelt. Es wird ein Quick-Wert von >40% angestrebt. Gleichzeitig wird Vitamin-K in täglicher Dosis im niedrigen mg-Bereich verabreicht.

> **! In den meisten Fällen kann durch die Vitamin-K-Substitution eine weitgehende Normalisierung der Gerinnung und damit eine effiziente Blutungsprophylaxe erreicht werden. Ist dies nicht möglich, kann in schweren Fällen eine Dauerprophylaxe mit PPSB erforderlich werden.**

## 30.4.4 Faktor-V-Mangel

### Epidemiologie und Genotyp

Die Häufigkeit für das Auftreten eines klinisch relevanten FV-Mangels wird mit $1:10^6$ Geburten angegeben (Asselta et al. 2006b). Der FV-Mangel wird autosomal-rezessiv vererbt. Im Unterschied zum thrombophilen FV-Genotyp, der in über 99% der Fälle auf die FV-Leiden-Mutation zurückgeführt werden kann, sind für den hämophilen FV-Genotyp unterschiedlichste Mutationsformen beschrieben worden, die sich auf das gesamte FV-Genom verteilen. Ein Mutationsregister ist unter der Internetadresse http://www.lumc.nl/rep/cod/redirect/4010/research/factor_v_gene.html verfügbar (Vos 2007).

### Pathophysiologie

Aktivierter FV ist geschwindigkeitsbestimmender Kofaktor im Prothrombinasekomplex, sodass eine verminderte FV-Aktivität ähnlich wie der FX-Mangel und der Prothrombinmangel zu einer verminderten Thrombinbildung führt.

Faktor V wird in den α-Granula von Thrombozyten gespeichert. Etwa 25% des gesamten FV befinden sich im thrombozytären Kompartiment. Während der Thrombozytenaktivierung wird der FV freigesetzt und verstärkt die Thrombingenerierung am Ort einer Verletzung. FV wird nicht durch den Thrombozyten bzw. Megakaryozyten synthetisiert, sondern von den Thrombozyten endozytiert. Dadurch können hämostyptisch relevante thrombozytäre FV-Konzentrationen auch bei niedrigen Plasmaspiegeln an FV erreicht werden. Dies kann erklären, warum trotz erniedrigter Plasmaspiegel nur eine geringe klinische Symptomatik zu beobachten ist.

Im Mausmodel ist ein kompletter FV-Syntheseausfall mit dem Leben nicht vereinbar. Interessanterweise führen bereits geringe Restaktivitäten von weniger als 1% zu einem

Überleben der Mäuse (Yang et al. 2000). Dieser Befund könnte erklären, warum ein vollständiger FV-Mangel beim Menschen bisher nicht beschrieben worden ist.

#### Laboranalytischer Phänotyp

Als Folge eines FV-Mangels ist die APTT verlängert und der Quick-Wert erniedrigt. Die Einzelfaktoraktivität ist erniedrigt. Die FV-Aktivität ist meist stärker vermindert als die FV-Antigenkonzentration. Bei einem schweren FV-Mangel ist auch die thrombozytäre FV-Konzentration erniedrigt.

#### Klinischer Phänotyp

Das Blutungsrisiko und das Auftreten von Spontanblutungen sind abhängig von der Restaktivität. Beim schweren FV-Mangel mit Restaktivitäten <5% können spontan Schleimhautblutungen, Epistaxis, Gingivablutungen und Muskelblutungen auftreten. Intraartikuläre Blutungen sind sehr selten.

Bei Patienten mit Restaktivitäten zwischen 5 und 20% dominieren verlängerte Blutungen nach kleineren Verletzungen und operativen Eingriffen. Spontane Blutungskomplikationen werden fast nicht beobachtet.

#### Therapie

Ein FV-Konzentrat, das zur Substitutionstherapie eingesetzt werden könnte, steht nicht zur Verfügung. Zur Therapie und Prophylaxe wird deswegen die Gabe von Frischplasma empfohlen. Durch die Gabe von 4–6 Frischplasmen ist in der Regel eine Anhebung der FV-Aktivität auf 15–20% möglich.

**! Kann im Fall von bedrohlichen Blutungen durch die Gabe von Frischplasma keine ausreichend schnelle Blutstillung erreicht werden, ist die Gabe von rFVIIa (Bolus 100 µg/kgKG) eine Behandlungsalternative.**

Zur Prophylaxe von Blutungen ist bei Eingriffen mit einem mittleren bis geringen Blutungsrisiko eine FV-Aktivität >20% ausreichend. Bei Eingriffen mit einem hohen Blutungsrisiko wird eine Aktivität von >50% empfohlen. Ist die Volumentoleranz des Patienten nicht ausreichend, um entsprechende Volumina an Frischplasma zu substituieren, kann durch Plasmapherese eine volumenneutrale Anhebung der FV-Aktivität erreicht werden.

### 30.4.5 Kombinierter Mangel an Faktor V und VIII

#### Epidemiologie und Genotyp

Der kombinierte Mangel an Faktor V und Faktor VIII beruht auf einer Störung der Chaperonfunktion, die für den intrazellulären Transport der beiden Faktoren vom endoplasmatischen Retikulum zum Golgi-Apparat verantwortlich sind. Die kodierenden Gene sind auf Chromosom 18 (LMAN1) und auf Chromosom 2 lokalisiert. Das letztere wird als »multiple clotting factor deficiency gene 2« (MCFD2) bezeichnet (Zhang u. Ginsburg 2004).

#### Laboranalytischer Phänotyp

Die Faktor-V- und Faktor-VIII-Aktivitäten liegen zwischen 5 und 15%.

#### Klinischer Phänotyp

Das klinische Bild des kombinierten FV- und FVIII-Mangels entspricht dem einer milden bis mittelschweren Hämophilie. Spontane Blutungskomplikationen sind selten. Nach operativen Eingriffen und im Rahmen von Verletzungen können Blutungen auftreten.

#### Therapie

Therapeutisch ist eine Substitution mit FVIII-Konzentrat und Frischplasma erforderlich. Vor Eingriffen mit einer hohen Blutungsgefährdung kann die Faktor-V-Aktivität durch die alleinige Substitution mit FFP (gefrorenes Frischplasma) nicht ausreichend angehoben werden. In einzelnen Fallberichten wurde in dieser Situation über den erfolgreichen Einsatz einer Plasmapherese mit nachfolgender FFP-Substitution zur Stabilisierung der erreichten Aktivitäten beschrieben.

### 30.4.6 Faktor-XI-Mangel

#### Epidemiologie und Genotyp

In Bevölkerungen mit kaukasischer Abstammung liegt die Häufigkeit des hereditären FXI-Mangels wahrscheinlich unter $1{:}10^6$. In Bevölkerungsgruppen mit einem anderen genetischen Hintergrund, wie den Ashkenazi-Juden, kann die Inzidenz des FXI-Mangels 4% betragen.

Der FXI-Mangel wird autosomal rezessiv vererbt. Das 15 Exone umfassende FXI-Gen ist auf Chromosom 4 in der Region q32-q35 lokalisiert. Fast alle bisher identifizierten hereditären FXI-Mangelerkrankungen können auf 3 Punktmutationen zurückgeführt werden (Hancock et al. 1991, Asakai et al. 1989). Typ-I-Mutationen sind im letzten Intronsegment lokalisiert und betreffen die Spaltstelle des Intron-Exon-Übergangs. Durch diese Mutationen wird der zur mRNA-Bildung führende Splice-Vorgang nicht richtig durchgeführt oder es resultiert ein vorzeitiger Translationsabbruch. Als Typ-II-Mutation wird eine Mutation bezeichnet, die im Exon 5 lokalisiert ist und dort zur Bildung eines Stopp-Codons führt. Die Typ-III-Mutation ist in Exon 9 lokalisiert und führt zu einer Substitution von Phenylalanin durch die Aminosäure Leucin in Position 238.

In den publizierten kleinen Populationsstudien finden sich die Typ-II und Typ-III-Mutationen am häufigsten. Compound-Heterozygosity findet sich häufig in Patienten mit einem FXI-Mangel. Eine klare Genotyp-Phänotyp-Korrelation findet sich nicht. Eine Zusammenstellung der FXI-Mutationen findet sich im Internet unter http://www.factorXI.com.

#### Pathophysiologie

Aktivierter FXI spielt eine wichtige Rolle in der Verstärkung der Gerinnungsaktivierung. Nach Aktivierung durch das initial gebildete Thrombin katalysiert FXIa die FIX-Aktivierung und ermöglicht dadurch die Bildung des Tenasekomplexes. Die daraus resultierende Verstärkung der Thrombinbildung ist im Fall eines FXI-Mangels eingeschränkt.



**! Vergleichbar mit den Hämophilien A und B kann die für eine stabile Gerinnselbildung notwendige kritische Thrombinkonzentration nicht erreicht werden. Wegen dieser pathophysiologischen Ähnlichkeiten wurde der FXI-Mangel auch als Hämophilie C bezeichnet.**

#### Laboranalytischer Phänotyp

Bei einem Mangel an FXI findet sich eine verlängerte APTT bei einer im Referenzbereich liegenden Thromboplastinzeit. Beweisend ist die erniedrigt gemessene Einzelfaktoraktivität. In Abhängigkeit vom Mutationstyp ist die FXI-Antigenkonzentration grenzwertig oder paralell zur FXI-Aktivität erniedrigt.

#### Klinischer Phänotyp

Die Blutungssymptomatik bei Patienten mit einem FXI-Mangel ist heterogen, und die Korrelation mit der gemessenen Restaktivität ist nicht so eng, wie bei anderen Faktorenmängeln. Patienten mit einem schweren FXI-Mangel, der meist durch eine homozygot oder doppelt heterozygot vorliegende Mutation ausgelöst wird, weisen eine schwere Blutungsneigung auf, die durch spontan auftretende Blutungen und starke Blutungen nach Verletzungen und operativen Eingriffen gekennzeichnet ist. Häufig haben diese Patienten eine positive Familienanamnese. Epistaxis und Weichteilblutungen sind häufige Symptome. Intraartikuläre Blutungen treten selbst bei schwerem FXI-Mangel nicht auf. Betroffene Patientinnen können Menorrhagien aufweisen.

Patienten mit einem leichten FXI-Mangel sind häufig klinisch asymptomatisch. Auch in Risikosituationen kommt es nicht zu verstärkten Blutungen.

#### Therapie

Ein FXI-Konzentrat steht in Deutschland nicht zur Verfügung. International sind 2 FXI-Konzentrate verfügbar, die von Bio Products Laboratory in Großbritanien und in Frankreich vom Laboratoire Francais du Fractionnement et des Biotechnologies hergestellt werden. Obwohl beiden Präparaten in hoher Konzentration Antithrombin zugesetzt wird, ist ihre Anwendung mit einem erhöhten Thromboserisiko verbunden. Ausgelöst wird dies wahrscheinlich durch im Präparat vorhandenen FXIa.

Die Behandlung von Blutungskomplikationen erfolgt durch die Gabe von Frischplasma. Im Schnitt kann bei Erwachsenen durch die Gabe von 6–8 FFP ein Anstieg der FXI-Aktivität um 20–30% erreicht werden. Dieser Anstieg ist für eine Blutstillung ausreichend. Bei Kindern wird die Gabe von 10–20 ml FFP/kgKG empfohlen. Bei FFP-Unverträglichkeit oder unzureichender Wirkung kann rFVIIa in der Dosierung 15–30 μg/kgKG eingesetzt werden.

In Einzelfallberichten wurde über eine erfolgreiche Therapie von FXI-Mangelblutungen mit DDAVP berichtet. Da DDAVP die FXI-Aktivität nicht erhöht, ist dies wahrscheinlich auf die allgemeine hämostyptische Wirkung des Medikaments zurückzuführen. In der Behandlung von kleineren Blutungen kann ein Therapieversuch mit DDAVP unternommen werden.

Zur Prophylaxe von Blutungen wird bei größeren Eingriffen eine FXI-Aktivität von 40% angestrebt. Dieses Substitutionsziel wird durch die Gabe von FFP erreicht.

### 30.4.7 Mangel an Kontaktfaktoren

Ein Mangel von Faktor XII, Präkallikrein und von hochmolekularem Kininogen führt zu einer deutlich verlängerten APTT, ist aber selbst bei komplettem Ausfall eines der Faktoren nicht mit einer Blutungsneigung oder einem anderen klinischen Phänotyp verbunden (▶ Kap. 20).

### 30.4.8 Fibrinogenmangel

#### Epidemiologie und Genotyp

Exakte Zahlen über die Häufigkeit des Fibrinogenmangels existieren nicht. Man schätzt, dass eine Afibrinogenämie mit einer Häufigkeit von $1:10^6$ auftritt. Die Hypo- und Dysfibrinogenämien sind mit geschätzten Inzidenzen von 1:100.000–1:500.000 häufiger.

Die 3 Proteinketten des Fibrinogenmoleküls werden von unterschiedlichen Genen kodiert, die auf Chromosom 4 ein Gen-Cluster bilden. Mutationen in jedem der 3 Gene können die Fibrinogensynthese stören. Eine Zusammenstellung der bisher beschriebenen Fibrinogenmutationen findet sich in einer Fibrinogendatenbank unter der Internetadresse http://www.geht.org/databaseang/fibrinogen.

Die bekannten Mutationen verteilen sich relativ gleichmäßig auf alle 3 Gene. Das Mutationsspektrum ist hetero-

gen. Eine bevorzugte und besonders häufig vorkommende Mutation ist nicht erkennbar. Wider Erwarten dominieren große Deletionsmutationen auch bei Patienten mit einem kompletten Syntheseausfall, einer Afibrinogenämie, nicht das Mutationsspektrum. Sie treten nicht häufiger auf als kleinere Deletionsmutationen, Insertionen, Deletionen oder Splice-Mutationen.

### Pathophysiologie

Das aus dem löslichen Fibrinogen gebildete Fibrinnetz ist ein Hauptbestandteil des Gerinnsels und verbindet die aggregierten Thrombozyten untereinander und mit den Strukturen der verletzten Gefäßwand. Ein Mangel an Fibrinogen beeinträchtigt direkt die Gerinnselbildung und führt zur Ausbildung von instabilen Gerinnseln. Bei einer Afibrinogenämie können ausschließlich Thrombozytengerinnsel gebildet werden.

Als Strukturprotein ist Fibrin in verschiedenste zellproliferative Prozesse eingebunden, zu denen die Wundheilung genauso wie die Implantation der befruchteten Eizelle in die Gebärmutterschleimhaut gehören. Durch einen Fibrinogenmangel können diese Prozesse gestört sein.

### Laboranalytischer Phänotyp

Die angeborenen Fibrinogensynthesestörungen werden in eine Afibrinogenämie, eine Hypofibrinogenämie und eine Dysfibrinogenämie unterteilt. Bei der **Afibrinogenämie** liegt ein vollständiger Syntheseausfall vor, wohingegen bei der **Hypofibrinogenämie** die Fibrinogenkonzentration erniedrigt ist. Das synthetisierte Restfibrinogen weißt aber keine Funktionsstörung auf. Dementsprechend kommt es zu einer gleichmäßigen Erniedrigung der mit funktionellen Testverfahren und der mit immunologischen Testverfahren gemessenen Fibrinogenkonzentration. Im Fall der **Dysfibrinogenämie** wird ein Fibrinogenmolekül mit verminderter Funktion gebildet, sodass die funktionell gemessenen Fibrinogenkonzentrationen deutlich niedriger sind als die immunologisch gemessenen Fibrinogenkonzentrationen.

Bei Vorliegen eines Fibrinogenmangels sind alle koagulometrischen Testergebnisse verlängert, weil durch das fehlende Fibrinogen die Gerinnselbildung eingeschränkt ist. Da Fibrinogen ein wichtiger Kofaktor für die Faktor-XIII-Aktivierung ist, kann die Faktor-XIII-Aktivität eingeschränkt sein.

### Klinischer Phänotyp

Eine eindeutige Phänotyp-Genotyp-Korrelation existiert beim hereditären Fibrinogenmangel nicht. In Abhängigkeit von der Plasmakonzentration des zirkulierenden Fibrinogens haben Patienten ein erhöhtes Blutungsrisiko. Die Blutungen können spontan auftreten und sich in Form von Nasen- und Zahnfleischblutungen manifestieren, auch Weichteilblutungen und Schleimhautblutungen treten auf. Nach Verletzungen und operativen Eingriffen können länger anhaltende Blutungen auftreten. Insgesamt ist die Blutungssymptomatik heterogen.

Bei Fibrinogenwerten >100 mg/dl treten Blutungssymptome nicht auf, bei Fibrinogenwerten zwischen 50 und 100 mg/dl können in Risikosituationen leicht verstärkte Blutungen auftreten. Schwere Blutungskomplikationen sind sehr selten, spontane Blutungen treten nicht auf.

**! Auch bei Patienten mit Fibrinogenwerten unter 50 mg/dl bis hin zur Afibrinogenämie ist die Blutungsneigung eher diskret. Spontanblutungen sind eher selten.**

Typischerweise kommt es in speziellen Risikosituationen zu verstärkten Blutungen. Eine mögliche Erklärung für die sehr geringe klinische Symptomatik, die auch bei einer starken Verminderung des Fibrinogenspiegels auftritt, ist die Speicherung von Fibrinogen in den α-Granula der Thrombozyten. Die Thrombozyten können das gespeicherte Fibrinogen unmittelbar am Ort einer Gefäßverletzung sezernieren. Die Afibrinogenämie kann mit einem erhöhten Abortrisiko einhergehen. Außerdem ist das peripartale Blutungsrisiko erhöht.

Einige Formen des Fibrinogenmangels führen zu einem erhöhten Thromboserisiko und nicht zu einem erhöhten Blutungsrisiko (Lak et al. 1999). Eine mögliche Erklärung für die Thromboseneigung ist eine verstärkte thrombinabhängige Thrombozytenaktivierung, die als Folge des Wegfalls der thrombinbindenden Eigenschaft von Fibrin/Fibrinogen entsteht (de Bosch et al. 2002). Eine andere Hypothese geht von einer verminderten fibrinolytischen Sensitivität des Fibrins aus.

Bei einigen Formen der Hypo-/Dysfibrinogenämie kann es zur Akkumulation von Fibrinogen in Hepatozyten in sogenannten Einschlusskörperchen kommen. Diese Veränderungen können bis zur Leberzirrhose führen (Pfeifer et al. 1981; Wehinger et al. 1983). Bei Patienten mit einer angeborenen Form der renalen Amyloidose konnten Mutationen in einem C-terminalen Teil der Aα-Kette nachgewiesen werden (MIM+134820). Diese Mutation verändert die Struktur von Aα-Degradationsprodukten derart, dass diese spontan zu Amyloidfibrillen aggregieren können, die in der Niere präzipitieren und dort eine amyloidtypische Nierenfunktionsstörung induzieren (Uemichi et al. 1996).

### Therapie

Zur Therapie des Fibrinogenmangels steht ein aus Plasma gereinigtes Fibrinogenkonzentrat zur Verfügung. Zur Behandlung von Blutungen, die mit lokalen Maßnahmen nicht beherrscht werden können, werden beim Erwachsene

3 g Fibrinogen und bei Kindern mit einem Körpergewicht <20 kg 1 g und <10 kg 0,5 g Fibrinogen intravenös verabreicht.

**Es wird ein Zielwert von 100 mg/dl angestrebt. Fibrinogen hat eine lange Halbwertszeit von 4 Tagen. Deswegen sind nach erfolgter Blutstillung Fibrinogengaben bis zum Abheilen der Wunde im Abstand von 2 Tagen ausreichend.**

Zur Prophylaxe von Blutungen bei Eingriffen, die mit einem hohen Blutungsrisiko einhergehen, werden präoperative Fibrinogenspiegel von 100 mg/dl angestrebt. Im perioperativen Management dieser Patienten muss beachtet werden, dass aufgrund der fehlenden Reservekapazität des Organismus Fibrinogenspiegel sehr schnell in kritische Bereiche abfallen können.

Bei Patienten mit einer Afibrinogenämie und ausgeprägter Blutungsneigung kann eine dauerhafte Substitution erforderlich sein. Wegen der langen Halbwertszeit sind Substitutionen in 1- bis 2-wöchentlichen Abständen ausreichend.



### 30.4.9 Faktor-XIII-Mangel

#### Epidemiologie und Genotyp

In der internationalen Literatur wird die Häufigkeit des FXIII-Mangels mit $1:10^6$ Geburten angegeben. Diese Zahl dürfte für den schweren FXIII-Mangel zutreffend sein, der leichte und milde FXIII-Mangel tritt wahrscheinlich etwas häufiger auf.

Das im Plasma zirkulierende FXIII-Molekül ist ein Tetramer, das aus je 2 A- und B-Untereinheiten aufgebaut ist. Das aktive Zentrum ist auf der A-Untereinheit lokalisiert. Die B-Untereinheit reguliert die Aktivierung von FXIII und ist mit einem Transportprotein vergleichbar. Das Gen für die A-Untereinheit ist auf Chromosom 6, das Gen für die B-Untereinheit auf Chromosom 1 lokalisiert. Obwohl die FXIII-Enzymaktivität auf der A-Untereinheit lokalisiert ist, können auch Mutationen in der B-Untereinheit zu einem FXIII-Mangel führen. Dies wird mit einer stark verminderten Halbwertszeit der A-Untereinheit oder einer Störung in der Aktivierungskinetik begründet. Ein Register der FXIII-Mutationen findet sich unter der Internetadresse www.f13-database.de (Ivaskevicius et al. 2007).

#### Pathophysiologie

Aktivierter Faktor XIII ist eine Transaminase, die nach Aktivierung durch Thrombin die Ausbildung von kovalenten Peptidbindungen zwischen den Fibrinmolekülen und verschiedenen anderen Proteinen der extrazellulären Matrix und von adhärierten Thrombozyten katalysiert. Ist die FXIII-Aktivität reduziert, kann die Quervernetzung in nicht ausreichendem Maß erfolgen. Das Fibringerinnsel wird nicht ausreichend stabilisiert und nicht stabil mit den verletzten Gewebsstrukturen verankert.

#### Laboranalytischer Phänotyp

Die FXIII-Aktivität wird durch die Globaltests APTT und Quick-Wert nicht erfasst. Zur Bestimmung der FXIII-Aktivität stehen verschiedene Testverfahren zur Verfügung (▶ Kap. 62). Eine genauere Charakterisierung des FXIII-Mangels kann durch eine immunologische Bestimmung der FXIII-Plasmakonzentration und der Plasmakonzentrationen der A- und B-Untereinheiten erfolgen. Zusätzlich ist eine Mutationsanalyse möglich.

#### Klinischer Phänotyp

Der FXIII-Mangel ist ein Risikofaktor zur Entwicklung von Blutungen. Das Blutungsrisiko korreliert dabei mit der Erniedrigung der FXIII-Aktivität. Beim schweren FXIII-Mangel mit Aktivitätswerten <5% können spontane Blutungen auftreten, die beim mittelschweren (5–20%) und beim milden (20–50%) FXIII-Mangel extrem selten sind.

Nach operativen Eingriffen und nach kleineren Verletzungen kommt es zu verstärkten Blutungen. Auch besteht eine Hämatomneigung. Insbesondere nach kleineren Verletzungen ist die Blutung zweizeitig. Nach einer zunächst regelrecht verlaufenden Blutstillung tritt erneut eine Blutung auf.

Häufig wird der FXIII-Mangel mit einer gestörten Wundheilung und einer überschießenden Kallusbildung in Zusammenhang gebracht. Systematische Untersuchungen an Patienten mit einem FXIII-Mangel konnten das Symptom der überschießenden Narbenbildung nicht als FXIII-typisch bestätigen. Auch stellt der FXIII-Mangel keinen klassischen Risikofaktor zur Entwicklung von Wundheilungsstörungen dar.

#### Therapie

Zur Therapie von akuten Blutungen und zur Blutungsprophylaxe stehen FXIII-Konzentrate zur Verfügung. Im Fall von akuten Blutungen und zur Vorbereitung von operativen Eingriffen wird FXIII in einer Dosierung von 50 E/kgKG verabreicht.

Nur in seltenen Fällen eines schweren FXIII-Mangels mit bereits mehrfach aufgetretenen Spontanblutungen ist eine Dauersubstitution mit FXIII erforderlich. Wegen der sehr langen Halbwertszeit von 9 Tagen sind in diesen Fällen Substitutionsintervalle von 14 Tagen mit einer Dosierung von 25 IE/kgKG ausreichend.

Die Behandlungsintervalle sind im Fall von akuten Blutungen kürzer, wahrscheinlich bedingt durch einen erhöhten Verbrauch von Faktor XIII. In der Blutungsbehandlung sollte die FXIII-Dosierung so gewählt werden, das Restak-

tivitäten von 20–30% nicht unterschritten werden. Eine kontinuierliche Anhebung der Aktivitäten auf >50% ist in der Regel nicht erforderlich.

### 30.4.10 Ausblick

Verschiedene Gentherapieprotokolle wurden zur Behandlung der schweren Hämophilie A und B entwickelt und konnten im Tierversuch erfolgreich eingesetzt werden. In klinischen Studien werden zurzeit verschiedene Gentherapieprotokolle getestet.

Eine weitere kausale Therapieoption könnte die Transplantation von Hepatozyten oder hepatischen Stammzellen sowie von modifizierten hämatopoetischen Stammzellen darstellen. Diese vielversprechenden Therapieansätze befinden sich zurzeit noch im experimentellen Stadium.

### Literatur

Aledort LM, Haschmeyer RH, Pettersson H (1994) A longitudinal study of orthopaedic outcomes for severe factor-VIII-deficient haemophiliacs. The Orthopaedic Outcome Study Group. J Intern Med 236: 391–399

Asakai R, Chung DW, Ratnoff OD et al. (1989) Factor XI (plasma thromboplastin antecedent) deficiency in Ashkenazi Jews is a bleeding disorder that can result from three types of point mutations. Proc Natl Acad Sci USA 86: 7667

Asselta R, Duga S, Tenchini ML (2006a) The molecular basis of quantitative fibrinogen disorders. Journal of Thrombosis and Haemostasis 4: 2115–2129

Asselta R, Tenchini ML, Duga S (2006b) Inherited defects of coagulation factor V: the hemorrhagic side. J Thromb Haemost 4: 26–34

Briët E, Bertina RM, van Tilburg NH, Veltkamp JJ (1982) Hemophilia B Leyden: a sex-linked hereditary disorder that improves after puberty. N Engl J Med 306: 788–790

Briet E, Onvlee G (1987) Hip surgery in a patient with severe factor VII deficiency. Haemost 17: 273

Cooper D, Millar D, Wacey A et al. (1997) Inhertied factor VII deficiency: molecular genetics and pathophysiology. Thromb Haemost 78: 151

de Bosch NB, Mosesson MW, Ruiz-Saez A et al. (2002) Inhibition of thrombin generation in plasma by fibrin formation (Antithrombin I). Thromb Haemost 88: 253–258

de Moerloose P, Neerman-Arbez M (2008) Treatment of congenital fibrinogen disorders. Epert Opin Biol Ther 8: 979–992

Fagan K, Wilkinson J, Allen M et al. (1988) The coagulation factor VII regulator is located on 8q23.1. Hum Genet 79; 365

Hancock J, Wieland K, Pugh RE et al. (1991) A molecular genetic study of factor XI deficiency. Blood 77: 1942

Ivaskevicius V, Seitz R, Kohler HP, Schroeder V, Muszbek L, Ariens RA, Seifried E, Oldenburg J; Study Group (2007) International registry on factor XIII deficiency: a basis formed mostly on European data. Thromb Haemost 97: 914–921

Lak M, Keihani M, Elahi F et al. (1999) Bleeding and thrombosis in 55 patients with inherited afibrinogenaemia. Br J Haematol 107: 204–206

Kurachi S, Furukawa M, Salier JP, Wu CT, Wilson EJ, French FS, Kurachi K (1994) Regulatory mechanism of human factor IX gene: protein binding at the Leyden-specific region. Biochemistry 33: 1580–1591. Erratum in: Biochemistry 1995;34: 14270

Manco-Johnson MJ, Abshire TC, Shapiro AD et al. (2007) Prophylaxis versus episodic treatment to prevent joint disease in boys with severe hemophilia. N Engl J Med 357: 535–44

Mannucci PM (2008a) Back to the future: a recent history of hemophilia treatment. Haemophilia 14: 10–8

Mannucci PM (2008b) Prophylaxis in congenital coagulation disorders: past, present and future. Blood Transfus 6: 10–18

McVey JH, Boswell E, Mumford AD et al. (2001) Factor VII deficiency and the FVII mutation database. Hum Mutat 17: 3

Oldenburg J, Quenzel EM, Harbrecht U, Fregin A, Kress W, Müller CR, Hertfelder HJ, Schwaab R, Brackmann HH, Hanfland P (1997) Missense mutations at ALA-10 in the factor IX propeptide: an insignificant variant in normal life but a decisive cause of bleeding during oral anticoagulant therapy. Br J Haematol 98: 240–244

Oldenburg J, von Brederlow B, Fregin A et al. (2000) Congenital deficiency of vitamin K dependent coagulation factors in two families presents as a genetic defect of the vitamin K-epoxide-reductase-complex. Thromb Haemost 84: 937–941

Oldenburg J, Schwaab R (2001) Molecular biology of blood coagulation. Semin Thromb Hemost 27(4): 313–24; review

Perry DG (2002) Factor VII deficiency. Br J Haematol 118: 689

Pfeifer U, Ormanns W, Klineg O (1981) Hepatocellular fibrinogen storage in familial hypofibrinogenemia. Virchows Arch Cell Pathol 36: 247–255

Rost S, Fregin A, Ivaskevicius V et al. (2004) Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2. Nature 427: 537–541

Tuddenham E, Pemberton S, Cooper D (1995) Inherited FVII deficiency: Genetics and molecular pathology. Thromb Haemost 74: 313

Uemichi T, Liepnicks JJ, Yamada T et al. (1996) A frame shift mutation in the fibrinogen A alpha chain gene in a kindred with renal amyloidosis. Blood 87: 4197–4203

Vos HL (2007) An online database of mutations and polymorphisms in and around the coagulation factor V gene. J Thromb Haemost 5: 185–188

Wehinger H, Kllineg O, Alexandrakis E et al. (1983) Hereditary hypofibrinogenemia with fibrinogen storage in the liver. Eur J Pediatr 141: 109–112

Yang TL, Cui J, Taylor JM et al. (2000) Rescue of fatal neonatal hemorrhage in factor V deficient mice by low level transgene expression. Thromb Haemost 83: 70

Zhang B, Ginsburg D (2004) Familial multiple coagulation factor deficiencies: new biologic insight from rare genetic bleeding disorders. J Thromb Haemost 2(9): 1564–1572

## 30.5 Hemmkörperhämophilie

*J. Oldenburg, H.-H. Brackmann*



Die erworbene Hemmkörperhämophilie ist eine seltene erworbene Gerinnungsstörung, die mit schwersten Blutungskomplikationen einhergehen kann und eine hohe Morbidität und Mortalität aufweist. Demgegenüber ist die Hemmkörperhämophilie bei angeborener Hämophilie eine häufige und schwere Komplikation der Behandlung mit Gerinnungsfaktorenkonzentraten.

Die Quantifizierung des Hemmkörpers erfolgt durch Bestimmung der Bethesda-Einheiten (BE). Bei niedrigtitrigen Inhibitoren (<5 BE) kann durch die FVIII-Gabe die Inhibitorwirkung überspielt werden. Bei hochtitrigen Inhibitoren (>5 BE) werden bei Blutungen und zur Blutungsprophylaxe Bypass-Präparate wie FEIBA oder rFVIIa eingesetzt.

Bei Hämophilie-A-Patienten wird zur Antikörpereradikation die Immuntoleranztherapie erfolgreich eingesetzt. Bei zuvor Gerinnungsgesunden stehen verschiedene immunsuppressive Maßnahmen im Vordergrund, die mit einer Immuntoleranztherapie kombiniert werden können.



#### Einleitung

Die Hemmkörperhämophilie ist eine erworbene Gerinnungsstörung, die durch die Bildung eines Antikörpers ausgelöst wird, der gegen einen Gerinnungsfaktor gerichtet ist. Obwohl theoretisch alle Gerinnungsfaktoren Ziel einer adaptiven Immunantwort sein können, ist der Faktor VIII ein bevorzugtes Zielprotein für die Hemmkörperbildung.

Es wird zwischen der Bildung eines Alloantikörpers und eines Autoantikörpers unterschieden. Die Bildung von Alloantikörpern setzt voraus, dass das Zielprotein vom Organismus nicht oder in abgeänderter Form gebildet wird. Dies ist bei Patienten mit Hämophilie A der Fall. Autoantikörper erkennen ein vom Organismus synthetisiertes Protein. Dementsprechend werden Autoantikörper nur von Patienten gebildet, die keine genetisch determinierte Gerinnungsstörung aufweisen. Für diese Patienten wurde der Begriff der erworbenen Hemmkörperhämophilie geprägt, der auch in der internationalen Literatur als »aquired factor inhibitor« weit verbreitet ist.

Richtet sich der Antikörper gegen funktionell relevante Epitope des Gerinnungsfaktors, wird durch die Antikörperbindung die Funktion des Gerinnungsfaktors beeinträchtigt. Richtet sich der Antikörper gegen Epitope, die nicht unmittelbar für die Funktion des Gerinnungsfaktors relevant sind, kann durch die Antikörperbindung die Halbwertszeit des Gerinnungsfaktors reduziert werden. Solche sogenannten präzipitierenden Antikörper induzieren eine Blutungsneigung durch die Abnahme der Plasmakonzentration des Gerinnungsfaktors.

### 30.5.1 Hemmkörperhämophilie durch FVIII-Autoantikörper – erworbene Hemmkörperhämophilie

#### Epidemiologie und Pathophysiologie

Die Entwicklung eines inhibitorischen FVIII-Antikörpers beim bis dahin Gerinnungsgesunden ist ein sehr seltenes Ereignis. Die Inzidenz wird mit 1 bis 4 Fälle auf 1 Million Einwohner pro Jahr angegeben (Cohen 1996; Franchini u. Lippi 2008).

**! Die durch die Antikörper ausgelöste Blutungsneigung ist schwer. Etwa 90% der Blutungen sind bedrohlich oder schwer. Die Mortalität wird mit 8–22% angegeben (Green 1981).**

Die Inzidenz ist altersabhängig. Im Kindesalter wird eine FVIII-Autoantikörperbildung praktisch nicht beobachtet. In der Erwachsenenpopulation liegt die Inzidenz bei 14,7 pro 1 Million pro Jahr. Möglicherweise wird die Inzidenz in der Gruppe der älteren Erwachsenen über 85 Jahre leicht unterschätzt.

Insgesamt zeigt die Altersverteilung einen biphasischen Verlauf mit einem schmalen Gipfel zwischen dem 20. und 30. Lebensjahr und einem größeren Peak zwischen dem 65. und 80. Lebensjahr. Der schmale erste Peak bildet die Fälle postpartaler Inhibitorentwicklung ab, ansonsten ist die Geschlechtsverteilung ausgeglichen. Bei etwa der Hälfte der Patienten erfolgt die FVIII-Autoantikörperbildung unabhängig von Begleitumständen oder einer Grunderkrankung. Mit dem Auftreten von FVIII-Inhibitoren verbunden sind Schwangerschaft und Wochenbett, Autoimmuner-

krankungen, solide Tumoren und hämatologische Erkrankungen, Infektionen oder Medikamente.

### Klinik und Diagnostik

Das klinische Bild und die Blutungssymptomatik von Patienten mit einer Hemmkörperhämophilie durch Autoantikörper unterscheiden sich vom Blutungsbild der Hämophilie A. Es dominieren Weichteilblutungen, Muskelblutungen, Haut- und Schleimhautblutungen. Im Unterschied zur Hämophilie A sind intraartikuläre Blutungen extrem selten.

Die Blutungen sind meist sehr ausgeprägt. Dies gilt insbesondere für Blutungen nach Verletzungen und operativen Eingriffen. Hinzu kommen bedrohliche Organblutungen, wie z. B. intrazerebrale Blutungen, oder retropharyngeale Blutungen, die zu einer Verlegung der Luftwege führen können.

Diagnostisch hinweisend ist eine verlängert gemessene APTT bei einem bis dahin gerinnungsgesunden und klinisch unauffälligen Patienten. Das weitere laboranalytische Vorgehen ist im Kapitel Inhibitordiagnostik beschrieben (▶ Kap. 63).

Die Mortalität der erworbenen Hemmkörperhämophilie ist auch heute noch mit etwa 25% sehr hoch, da die Patienten zunächst in lokale Krankenhauseinrichtungen kommen, in denen die Diagnose oft zu spät gestellt wird und die sehr teuren Gerinnungsfaktoren zu spät eingesetzt werden.

### Therapie der akuten Blutung

Zur Behandlung der akuten Blutung stehen 2 Therapieoptionen zur Verfügung. Durch den Einsatz von sogenannten Bypass-Präparaten wird das prokoagulatorische Potenzial unter Umgehung der FVIII-Aktivität erhöht. Die andere Strategie verfolgt das Ziel, die Plasmakonzentration des FVIII zu erhöhen. Die Wahl des Vorgehens ist abhängig von dem Schweregrad der Blutung und dem Inhibitortiter (Green 2006).

**! Natürlich muss jede Maßnahme, die das Blutungsrisiko weiter erhöhen könnte, vermieden werden. Hierzu zählen intramuskuläre Injektionen, jegliche invasive diagnostische und therapeutische Maßnahmen, sofern nicht unbedingt erforderlich, und der Einsatz von Antithrombotika.**

#### Bypass-Medikamente

**FEIBA.** In einer retrospektiven Untersuchung, in die Daten von 17 Patienten mit insgesamt 55 Blutungsepisoden eingeflossen sind, wurde die Effektivität einer Therapie mit FEIBA belegt (Goudemand 2004). Im Mittel wurden 68 U/kg (35–80 U/kgKG) alle 8–24 h mit einer mittleren Behandlungsdauer von 3,5 Tagen (Spanne: 1–17 Tage) verabreicht. Ein Therapieerfolg konnte in 89% der untersuchten Patienten errreicht werden. In einer weiteren retrospektiven Analyse, die auf den Daten von 34 Patienten beruht, konnten leichte Blutungskomplikationen mit FEIBA zu 100% behandelt werden (Sallah 2004). Bei schweren Blutungskomplikationen lag der Erfolg bei 76%. Im Mittel erhielten die Patienten 75 U/kgKG FEIBA alle 8–12 h. Eine Untersuchung an einem norwegischen Patientenkollektiv bestätigt diese Daten (Holme et al. 2005). Durch die Gabe von 70 U/kgKG alle 8 h konnten Blutungen erfolgreich behandelt werden. Basierend auf diesen Daten wird eine FEIBA-Dosis von 50–100 U/kg mit Behandlungsintervallen von 8–12 h empfohlen.

**RFVIIa.** Erstmals wurde die Effektivität von rFVIIa zur Behandlung der Hemmkörperhämophilie von Hay und Mitarbeitern in einer retrospektiven Untersuchung beschrieben, in die Daten von 38 Patienten mit insgesamt 74 Blutungsereignissen einflossen (Hay et al. 1997). Die Behandlung wurde mit einer Dosierung von 90 µg/kgKG (Spanne: 45–181 µg/kgKG) alle 2–6 h eingeleitet. Im Mittel wurden 28 Einzeldosen (Spanne: 1–541 Dosen) pro Blutungsereignis über einen mittleren Behandlungszeitraum von 3,9 Tagen (Spanne: 0–43 Tage) verabreicht. Eine kürzlich publizierte Erhebung, in die Daten aus dem Compassionate Use Program der Hemophilia and Thrombosis Research Society (HTRS) einflossen, kann auf Daten von 139 Patienten mit 204 Blutungsepisoden zurückgreifen (Franchini u. Lippi 2008). In 95% der Fälle konnte durch die Gabe von rFVIIa ein Behandlungserfolg erzielt werden. Zur Behandlung und Prophylaxe von Blutungskomplikationen werden zurzeit Boli von 90–120 µg/kgKG empfohlen, die in Behandlungsintervallen von 2–3 h appliziert werden. Die Dauer der Behandlung und die eventuelle Verlängerung der Intervalle ist abhängig vom klinischen Verlauf. Die kontinuierliche intravenöse Gabe von rFVIIa könnte eine kostengünstigere Behandlungsalternative darstellen, ist zurzeit aber noch nicht etabliert (Abschire u. Kenet 2004).

#### FVIII-Substitution

**Prociner FVIII.** Porciner FVIII wird von vielen FVIII-Autoantikörpern nicht erkannt. Dies erklärt, warum die Gabe von porcinem FVIII eine Möglichkeit ist, Patienten in akuten Blutungssituationen mit einem FVIII-Autoantikörper zu behandeln. Aus Plasma gereinigter porciner FVIII steht derzeit für den therapeutischen Einsatz nicht mehr zur Verfügung. In der klinischen Erprobung befindet sich aber ein B-Domänen-deletierter rekombinant hergestellter porciner FVIII.

**Humaner FVIII.** Der Erfolg einer Therapie mit humanem FVIII ist abhängig von der Inhibitorkonzentration. Bei Patienten mit einem niedrigtitrigen FVIII-Autoantikörper (<5 BE) kann durch die Gabe von FVIII die Inhibitorwirkung überspielt werden (Collins 2004). Es wurden verschiedene Modelle zur Berechnung der erforderlichen FVIII-

Dosis entwickelt. Erfahrungsgemäß lässt sich jedoch die benötigte FVIII-Dosis nur in etwa ermitteln. Eine Berechnung nach folgendem Schema hat sich in der Praxis bewährt. Eine Basisdosis von 40 IU/kgKG FVIII wird für jede Bethesda-Einheit um 20 IU gesteigert. Etwa 10 min nach der Bolusapplikation sollten die FVIII-Aktivitäten gemessen werden. Liegen die erzielten Werte unterhalb des angestrebten Aktivitätslevels, wird eine zusätzliche Bolusgabe empfohlen (Franchini u. Lippi 2008).

Durch eine Stimulationstherapie mit dem Desmopressinanalogon DDAVP kann bei Patienten mit niedrigtitrigem FVIII-Autoantikörper ein zusätzlicher Benefit erreicht werden. Dies ist für die subkutane Gabe von 0,3 μg/kgKG DDAVP an 3–5 aufeinanderfolgenden Tagen gezeigt worden (Mudad u. Kane 1993). Die zusätzliche Gabe des Antifibrinolytikums Tranexamsäure erscheint sinnvoll.

Bei Patienten mit hochtitrigen FVIII-Autoantikörpern gelingt es meist nicht, durch die FVIII-Gabe die Hemmkörperwirkung zu überspielen. In diesen Fällen kann durch eine Immunadsorption eine schnelle Reduktion des Antikörperspiegels erreicht werden (Zeitler et al. 2005, 2009). Werden andere Therapieoptionen gewählt, ist eine Beherrschung der akuten Blutungssituation nur durch die Gabe von Bypass-Medikamenten möglich.



### Inhibitoreradikation

Zur Elimination des Autoantikörpers wurden verschiedene therapeutische Strategien eingesetzt. Diese umfassen die Gabe von Immunsuppressiva wie Steroide, Cyclophosphamid, Azathioprin, Vincristin, Ciclosporin, dem monoklonalen Antikörper Rituximab, die hoch dosierte Immunglobulingabe, die Immunadsorption und die Immuntoleranztherapie.

#### Immunsuppressive Medikamente

Ein immunsuppressiver Ansatz zur Behandlung der FVIII-Autoantikörperhämophilie wurde in einer Reihe von Kasuistiken und kleineren monozentrischen Fallserien beschrieben. Die Wirksamkeit wurde in einer randomisierten Studie untersucht (Green et al. 1993). In diese Studie wurden 31 Patienten eingeschlossen, die für einen Zeitraum von 3 Wochen mit Prednisolon in einer Dosierung von 1 mg/kgKG behandelt wurden. War der Antikörper nach dieser Behandlungsphase weiter nachweisbar, wurden die Patienten randomisiert 2 Behandlungsarmen zugeordnet. Die eine Behandlungsgruppe erhielt für weitere 6 Wochen Prednisolon, während die andere Behandlungsgruppe zusätzlich täglich 2 mg/kgKG Cyclophosphamid oder Cyclophosphamid alleine erhielt. Etwa ein Drittel der Patienten zeigte bereits nach der 3-wöchigen Behandlungsphase mit Prednisolon eine Remission. Etwa 50% der Patienten, die nachfolgend der Cyclophosphamidgruppe zugeordnet wurden, zeigten ebenfalls eine Remission.

In einer nicht-randomisierten klinischen Untersuchung aus England konnte durch die kombinierte Gabe von Prednisolon und Cyclophosphamid kein verbesserter Therapieerfolg im Vergleich zur alleinigen Prednisolongabe erzielt werden (Collins 2007). Eine von Delgado und Mitarbeitern durchgeführte Metaanalyse, in die 20 klinische Studien zu Cyclophosphamid und Prednisolon aufgenommen wurde, kommt zu dem Schluss, dass durch die zusätzliche Gabe von Cyclophosphamid die Inhibitoreradikation beschleunigt werden kann (Delgado et al. 2003). Einen positiven Einfluss auf das Gesamtüberleben besteht aber nicht. Ebenfalls getestet wurden Kombinationen von Prednisolon mit Azathioprin oder mit Cyclophosphamid und Vincristin, die alle zu einem Therapieerfolg führten.

**! Basierend auf diesen Daten kommen Franchini und Lippi (2008) zu der Empfehlung, die Inhibitoreradikation mit einer 5-wöchigen Gabe von Prednisolon in einer Dosierung von 1 mg/kgKG täglich kombiniert mit Cyclophosphamid in einer Dosierung von 1–2 mg/kgKG täglich zu beginnen.**

Dabei sollte die immunsuppressive Therapie patientenspezifische Faktoren berücksichtigen und engmaschig überwacht werden, um frühzeitig Dosisanpassungen vorzunehmen. Dies erscheint besonders wichtig, da eine Auswertung der Daten des »European Acquired Hemophilia Registry« (EACH) gezeigt hat, dass Infektionen die häufigste Todesursache von Patienten mit einem FVIII-Autoantikörper darstellen (Franchini u. Lippi 2008). Dies wird durch die Ergebnisse einer Metanalyse bestätigt, die zeigen konnte, dass insbesondere ältere Patienten als Folge der immunsuppressiven Wirkung der Cyclophosphamidtherapie verstarben (Delgado et al. 2003). Deswegen wird empfohlen bei älteren Patienten die Cyclophosphamiddosis auf 50 mg/Tag und den Behandlungszeitraum auf 3–4 Wochen zu reduzieren.

**! Ebenfalls erfolgreich wurde Ciclosporin in einer Dosis von 200–300 mg/Tag eingesetzt (Petrovic et al. 2000).**

#### Hoch dosierte Immunglobuline

Die zur intravenösen Infusion eingesetzten Immunglobulinpräparate der Klasse IgG werden aus großen Plasma-Pools hergestellt. Es kann deswegen davon ausgegangen werden, dass sie Anti-Idiotyp-Antikörper enthalten, die FVIII-Autoantikörper neutralisieren können. Erstmalig wurde von Sultan und Mitarbeitern über eine erfolgreiche Behandlung eines Patienten mit einem FVIII-Autoantikörper durch hoch dosierte Immunglobulingaben berichtet. Eine daraufhin durchgeführte multizentrische Studie zeigte eine Ansprechrate von 25–37%, wobei komplette Remissionen nur bei Patienten mit niedrigtitrigen FVIII-Autoantikörpern zu beobachten waren (Schwarzt et al. 1995).

Auch die Kombination mit Cyclophosphamid oder anderen immunsuppressiven Medikamenten zeigte keinen wesentlich besseren Erfolg der hoch dosierten Immunglobulingaben (Collins 2007). Diese Daten zeigen, dass die alleinige hoch dosierte Gabe von Immunglobulinen keine alleinige Therapieoption zur Behandlung der FVIII-Autoantikörperbildung darstellt. Möglicherweise spielt die Immunglobulingabe als adjuvante Therapiemaßnahme in Kombination mit Prednisolon, der Immunadsorption und der Immuntoleranztherapie eine Rolle. Die üblicherweise verabreichte Dosis beträgt 1 g/kgKG an 2 aufeinanderfolgenden Tagen oder 0,4 g/kgKG an 5 aufeinanderfolgenden Tagen (Franchini u. Lippi 2008).

### Immunadsorption

Die Plasmapherese ist ein Therapieverfahren, das seit Jahren erfolgreich eingesetzt wird, um für einen kurzfristigen Zeitraum eine schnelle Elimination der zirkulierenden Antikörper zu erreichen. Besonders in der Therapie von hochtitrigen Antikörpern wird das Verfahren erfolgreich eingesetzt (Knöbl u. Derfler 1999).

Durch die Einführung der Immunadsorption, in der zur Antikörperelimination an Sepharose gekoppeltes Protein A oder polyklonale Anti-IgG-Antikörper eingesetzt werden, konnte das zu prozessierende Plasmavolumen erheblich gesteigert werden. Dadurch kann eine schnelle Reduktion der Plasmakonzentration an zirkulierendem Antikörper erreicht werden.

Die Immunadsorption wird v. a. zusammen mit der Immuntoleranztherapie eingesetzt. Ein Nachteil des Verfahrens sind die hohen Kosten und die Notwendigkeit eines speziellen technischen Equipments.

### Immuntoleranztherapie

Therapieprotokolle, mit denen eine Immuntoleranz (IT) aufgebaut werden kann (DiMichele et al. 2007), gehen von der Überlegung aus, dass durch die exogene Gabe von FVIII eine Stimulation der FVIII-Antikörper produzierenden B-Zellklone erreicht wird. Dadurch soll deren Empfindlichkeit gegenüber einer zytoreduktiven Therapie steigen. In einer weiteren Arbeit konnte gezeigt werden, dass hohe Dosen von FVIII in vitro einen direkt zytotoxischen Effekt auf Memory-B-Zellen haben (Hausl et al. 2005). Eine erste Kasuistik wurde 1971 von Green publiziert (Green 1971).

In einer etwas später publizierten Fallserie mit 12 Patienten konnte bei 11 Patienten durch die Kombination einer FVIII-Gabe mit Cyclophosphamid, Vincristin und Prednisolon ein Therapieerfolg erzielt werden (Lian et al. 1989). Das Budapest-Protokoll kombiniert die Gabe von FVIII-Konzentrat in einer Dosierung von 30 E/kgKG täglich in der ersten Woche, reduziert auf 20 E in der zweiten Woche und auf 15 E in der dritten Woche, kombiniert mit der Gabe von 200 mg täglich Cyclophosphamid bis zu einer kumulativen Gesamtdosis von 2–3 g und einer intravenösen Gabe von Methylprednisolon (100 mg/Tag; Nemes u. Pitlik 2000). Mit diesem Vorgehen kann in 90% der Fälle eine Eradikation des Inhibitors erreicht werden, im Median nach 7 Wochen.

Das modifizierte Bonn-Malmö-Protokoll kombiniert ebenfalls verschiedene Therapieansätze miteinander und erreichte in einer Fallserie bei 88% der behandelten Patienten eine komplette Remission (Zeitler et al. 2005, 2009). Dieses Protokoll kombiniert eine Immunadsorption, die das 2,5- bis 3-fache Plasmavolumen an 5 aufeinanderfolgenden Tagen prozessiert, mit der hoch dosierten Immunglobulingabe (0,3 g/kgKG an den Tagen 5–7). Zusätzlich erhalten die Patienten 1–2 mg/kgKG pro Tag Cyclophosphamid, 1 mg/kgKG pro Tag Prednisolon und 100 E/kgKG pro Tag FVIII-Konzentrat alle 8 h. Vorteile dieser Therapie sind die durch die rasche Abreicherung des Autoantikörpers erreichbare frühe Kontrolle der Hämostase mit FVIII-Konzentrat nach im Median 2 Tagen sowie die schnelle Eradikation des Hemmkörpers nach im Median 14 Tagen.


**Auch wenn diese Ansätze einen sehr erfolgversprechenden Weg der Inhibitorbehandlung darstellen, handelt es sich um vorläufige Daten, die zunächst in größeren kontrollierten klinischen Studien bestätigt werden sollten (Franchini u. Lippi 2008).**

### Rituximab

Rituximab ist ein monoklonaler Antikörper, der gegen das auf B-Zellen exprimierte CD20-Antigen gerichtet ist und der nach Applikation zu einer schnellen Depletion von B-Lymphozyten führt. Ursprünglich entwickelt wurde Rituximab zur Behandlung der B-Zelllymphome. Inzwischen wird er zur Behandlung einer Reihe von Autoimmunerkrankungen eingesetzt. Dementsprechend war es konsequent, Rituximab auch zur Behandlung der Hemmkörperhämophilie einzusetzen. Wiestner beschrieb 3 Patienten mit einem hochtitrigen FVIII-Autoantikörper, die nach Rituximab-Gabe einen schnellen Therapieerfolg zeigten (Wiestner et al. 2002). Die größte bisher publizierte Fallserie umfasst 10 Patienten, von denen bei 8 durch die Rituximab-Gabe eine komplette Remission erzielt werden konnte (Stasi et al. 2004). Die beiden Nonresponder konnten mit Cyclophosphamid erfolgreich behandelt werden.

Inzwischen sind eine Reihe von Fällen beschrieben in denen auch hochtitrige FVIII-Autoantikörper (>100 BE) und Patienten mit Rezidiven erfolgreich mit Rituximab behandelt wurden (Garvey 2008; Aggarwal et al. 2005). Eine Zusammenstellung von 71 in der Literatur beschriebenen Patienten zeigte eine erfolgreiche Rituximab-An-

wendung in mehr als 90% der Fälle (Franchini 2006). In der überwiegenden Mehrheit wurden die Patienten mit 375 mg/m² Rituximab pro Woche für einen Zeitraum von 4 Wochen behandelt. Bei Auftreten eines Rezidivs wurde der Therapiezyklus wiederholt. Die Mehrzahl der Patienten wurde mit einer begleitenden immunsuppresiven Therapie behandelt.

**! Trotz dieser positiven Befunde setzt eine Bewertung der Rituximab-Therapie eine randomisierte kontrollierte Studie voraus.**

**Tab. 30.15.** Behandlungsstrategien der Autoantikörper-induzierten Hemmkörperhämophilie. (Franchini u. Lippi 2008)

| Behandlungsstrategie | Dosierung und Empfehlungen |
|---|---|
| **Behandlung der akuten Blutung** | |
| *Bypass-Medikamente* | |
| FEIBA | 50–100 U/kg i.v. alle 8–12 h |
| rFVIIa | 90–120 µg/kg i.v. alle 2–3 h |
| *Anhebung der FVIII-Konzentration* | |
| Porciner FVIII | Zurzeit nicht verfügbar |
| Humaner FVIII | <5 BE: 20 E/kgKG i.v. mit Addition von 40 E/kgKG pro BE |
| DDAVP | <5 BE und nicht bedrohliche Blutung: 0,3 µg/kgKG i.v./s.c. |
| **Inhibitoreradikation** | |
| *Immunsuppression* | |
| Kortison und Cyclophosphamid | Prednisolon 1 mg/kgKG täglich plus Cyclophosphamid 1–2 mg/kgKG täglich für 5 Wochen |
| Ciclosporin | 200–300 mg täglich (allein oder in Kombination mit Prednisolon) |
| i.v.IgG in Kombination mit Steroiden, Immunadsorption oder Immuntoleranz | 0,4 g/kgKG täglich für 5 Tage oder 1 g/kgKG täglich für 2 Tage |
| Immunadsorption in Kombination mit FVIII-Substitution oder Immuntoleranz | 2,5- bis 3-faches des Plasmavolumens an 5 Tagen |
| Immuntoleranzinduktion | FVIII-Substitution in Kombination mit verschiedenen Eradikationsansätzen |
| Rituximab | 375 mg/m² wöchentlich über 4 Wochen mit Steroiden |

### 30.5.2 Hemmkörperhämophilie durch Alloantikörper – Hemmkörperhämophilie des Hämophilen

#### Epidemiologie und Pathophysiologie

Die Entwicklung von Alloantikörpern, die gegen FVIII gerichtet sind, ist eine häufige Nebenwirkung der FVIII-Substitution bei hämophilen Patienten. Etwa 20–30% der Patienten mit schwerer Hämophilie und 3–13% der Patienten mit leichter und mittelschwerer Hämophilie entwickeln Hemmkörper (Hay 2000). Die Hemmkörperbildung findet in der Regel im frühen Kindesalter zu Beginn der Behandlung mit Faktorenkonzentraten innerhalb der ersten 20–50 Expositionstagen statt.

**! Durch den Inhibitor wird der substituierte FVIII neutralisiert und/oder schnell aus der Zirkulation eliminiert, sodass durch die FVIII-Substitution keine Verbesserung oder Normalisierung der plasmatischen Gerinnung erreicht werden kann.**

Die Ursachen für die Entwicklung eines FVIII-Inhibitors bei Hämophilie-A-Patienten sind nicht im Detail bekannt. Eine wichtige Ursache ist der genetische Hintergrund. Mutationen, die zu einem kompletten Syntheseausfall führen, wie z. B. Nullmutationen, und große Deletionen, Nonsense-Mutationen und Intron-22-Inversionen sind mit einem höheren Risiko zur Inhibitorentwicklung behaftet (Tab. 30.16).

**Tab. 30.16.** Hämophiler Mutationstyp und Inhibitorprävalenz. (Kempton u. White 2008)

| Mutation | Mutationshäufigkeit [%] | Inhibitorprävalenz [%] |
|---|---|---|
| Große Deletionsmutationen | 3 | 41 |
| – Mehrere Domänen | | 88 |
| – Singulär | | 25 |
| Nonsense-Mutationen | 9,3 | 31 |
| – Leichte Kette | | 40 |
| – Schwere Kette | | 17 |
| Intron-22-Inversion | 36 | 21 |
| Kleine Deletionen | 10 | 16 |
| Missense-Mutationen | 38 | 5 |
| – C1/C2-Domäne | | 10 |
| – Andere Domäne | | 3 |
| Splice-Site-Mutationen | 2,4 | 17 |

Wahrscheinlich hat die zugrunde liegende Mutation auch einen Einfluss auf den Inhibitortiter. In einer Phänotyp-Genotyp-Korrelation konnte gezeigt werden, dass Patienten mit großen Deletionsmutationen in 69% einen hochtitrigen Inhibitor entwickelten, während die Inhibitorfrequenz von Missense-Mutationen bei 21% lag und bei allen anderen Mutationen bei 30–40% (Oldenburg et al. 2006).

In den letzten Jahren hat sich gezeigt, dass Polymorphismen in den Immunantwortgenen ebenfalls eine wichtige Bedeutung für das Risiko der Hemmkörperbildung haben. So zeigen bestimmte HLA-Allele (z. B. DR15 und DQ0602) ein erhöhtes Risiko für eine Hemmkörperbildung, während andere HLA-Allele (z. B. DR13) einen protektiven Effekt aufweisen (Oldenburg et al. 1997). Kürzlich konnte Astermark anhand der Untersuchung von Genen der Immunantwort in einer Geschwisterpaar-Studie zeigen, dass Polymorphismen in den Genen Il-10, TNF-α und CTLA-4 das Risiko der Hemmkörperbildung signifikant beeinflussen (Astermark et al. 2005, 2006, 2007). Auf den genetischen Hintergrund ist zurückzuführen, dass Inhibitoren gehäuft in Familien mit bereits bekannten Inhibitorpatienten und in Abhängigkeit von der ethnischen Herkunft vermehrt bei Hämophilen afroamerikanischer Herkunft auftreten.

In den letzten 2 Jahren konnte zudem gezeigt werden, dass auch die Behandlungsstrategie einen Einfluss auf die Hemmkörperbildung hat. In der bis heute wichtigsten Studie hierzu, der »CANAL-Studie«, wurden erstmals Daten präsentiert, die zeigen, dass eine frühe intensive Behandlung mit Faktor-VIII-Konzentrat ein hohes Hemmkörperrisiko hat, während der frühe Beginn einer Prophylaxe die Hemmkörperbildung um 60% reduziert (Gouw et al. 2007a).

Der Einfluss des eingesetzten FVIII-Konzentrats auf die Inhibitorentwicklung wurde in verschiedenen Studien untersucht. Ein Vergleich zwischen plasmatischen und rekombinanten FVIII-Präparaten, die zur Behandlung von PUP (»previously untreated patients«) eingesetzt wurden, zeigte eine leicht gesteigerte Inhibitorfrequenz bei rekombinanten Präparaten (Goudemand et al. 2006; Calvez et al. 2008). Andererseits haben auch rekombinante Faktorenpräparate in PUP-Studien eine geringe Hemmkörperinzidenz gezeigt (Oldenburg et al. 2006).

**! Diese Daten deuten daraufhin, dass es bei einem vorgegebenen genetischen Risiko für eine Hemmkörperbildung möglich ist, durch die Wahl des geeigneten Behandlungsregimes präventiv die Hemmkörperbildung zu vermeiden. Inwieweit dieser Ansatz erfolgreich sein wird, müssen prospektive Studien zeigen.**

Bei der Hämophilie B ist die Pathogenese der Hemmkörperbildung weit weniger untersucht. Aber auch hier gibt es eine eindeutige Korrelation mit schweren Gendefekten, insbesondere mit großen Deletionen.

In ◘ Tab. 30.17 sind mögliche behandlungsabhängige Risikofaktoren für die Inhibitorentwicklung zusammengefasst.

### Klinik und Diagnostik

Eine Prophylaxe zur Vermeidung von Blutungen gehört bei der Hämophilie inzwischen zum Standard. Aufgrund der vergleichsweisen kurzen Halbwertszeit ist sie bei Hemmkörperpatienten jedoch nicht bzw. mit den verfügbaren Bypass-Produkten nur sehr eingeschränkt möglich.

**! Dadurch entwickeln Hemmkörperpatienten vergleichsweise häufig Blutungen und infolgedessen zunehmende Gelenkarthropathien. Insbesondere ist das Risiko für intrazerebrale Blutungen erhöht.**

◘ **Tab. 30.17.** Risikofaktoren für die Inhibitorentwicklung. (Kempton u. White 2008)

| Autor | Risikofaktor | Relatives Risiko | 95%-iges Konfidenzintervall |
|---|---|---|---|
| Gouw et al. 2007a | Erstbehandlung im Alter <6 Monate versus Erstbehandlung im Alter >12 Monate | 1,8 | 0,7–4,7 |
| Lorenzo et al. 2001 | Erstbehandlung im Alter <6 Monate versus Erstbehandlung im Alter >18 Monate | 1,7 | 1,3–1,9 |
| Gouw et al. 2007a | Indikation zur Behandlung: chirurgischer Eingriff versus Blutung | 2,6 | 1,3–5,1 |
| Gouw et al. 2007a | Behandlungsdauer: >5 Tage versus <5 Tage | 3,3 | 2,1–5,3 |
| Gouw et al. 2007a | Kontinuierliche Prophylaxe versus Blutungstherapie | 0,4 | 0,2–0,8 |
| Santagostino et al. 2005 | Kontinuierliche Prophylaxe versus Blutungstherapie | 0,2 | 0,06–0,5 |
| Goudemand et al. 2006 | Rekombinante Präparate versus plasmatische Präparate | 2,4 | 1,0–5,8 |
| Gouw et al. 2007b | Plasmatische Präparate versus rekombinante Präparate | 0,8 | 0,5–1,3 |

Um eine Inhibitorentwicklung möglichst frühzeitig zu erkennen, wird bei Patienten, die eine schwere Hämophilie aufweisen, während der ersten 20–50 Expositionstage eine häufige Inhibitordiagnostik (alle 3–5 Tage) empfohlen.

Ein Anstieg der benötigten FVIII-Konzentrationen und eine eingeschränkte Recovery oder auch ein fehlendes klinisches Ansprechen auf die Gabe von Gerinnungsfaktorenkonzentrat können sensitive Hinweise auf die Entwicklung eines Inhibitors darstellen.

Entscheidend für die Diagnostik eines Inhibitors ist die Bestimmung der Bethesda-Einheiten, die eine Unterteilung in niedrigtitrige (<5 BE) und hochtitrige Antikörper (>5 BE) erlaubt (▶ Kap. 63).

## Therapie

Bei der Behandlung der Hemmkörperhämophilie wird unterschieden zwischen der symptomorientierten Blutungsbehandlung und der Immuntoleranztherapie zur dauerhaften Elimination des Hemmkörpers. Das therapeutische Vorgehen ist abhängig von der klinischen Symptomatik und dem Inhibitortiter.



### Therapie von akuten Blutungen

Bei Patienten mit einem Inhibitortiter unter 5 BE kann durch die hoch dosierte Gabe von FVIII-Konzentraten in der Regel die FVIII-Aktivität soweit korrigiert werden, dass eine zur Blutstillung ausreichende plasmatische Gerinnung gewährleistet ist.

Bei Patienten mit niedrigtitrigen Inhibitoren, bei denen durch die FVIII-Gabe keine Blutstillung erreicht werden kann und bei Patienten mit hochtitrigen FVIII-Inhibitoren mit >5 BE ist die Gabe der Bypass-Medikamente rFVIIa oder FEIBA indiziert, welche unabhängig von FVIII die gestörte Thrombinbildung in einem zur Blutstillung ausreichenden Maß verbessern können. Bei Notfällen oder Versagen von FEIBA und rFVIIa kann eine Immunapheresebehandlung erwogen werden.

In einer Vergleichsstudie, der FEIBA NovoSeven Comparative (FENOC) study, wurden beide Medikamente miteinander verglichen (Astermark et al. 2007). Studienziel war es, die Gleichwertigkeit von FEIBA und rFVIIa in der Behandlung von Blutungen in das Fußgelenk, das Kniegelenk und das Ellenbogengelenk bei Hämophiliepatienten mit Hemmkörpern zu untersuchen. Es wurde ein prospektives, randomisiertes und Cross-over-Studiendesign gewählt.

Nach dem Studienprotokoll wurden Gelenkblutungen der Patienten im Wechsel mit FEIBA oder rFVIIa behandelt, wobei das Medikament zur Behandlung der ersten Gelenkblutung randomisiert zugeteilt wurde. Insgesamt wurden 48 Patienten mit 96 Gelenkblutungen eingeschlossen. Die Gleichwertigkeit für beide Präparate wurde nicht erreicht. Die Ansprechraten zeigten erhebliche interindividuelle Unterschiede. Bei einem Teil der Patienten wurden bessere Behandlungsergebnisse mit FEIBA, bei einem anderen Teil bessere Behandlungsergebnisse mit rFVIIa und bei einem weiteren Teil gleich gute Ergebnisse mit beiden Medikamenten erzielt.

Im Jahr 2007 wurde eine Konsensusempfehlung zur Prophylaxe und Therapie von Blutungskomplikationen von Hämophilie-A-Patienten mit hochtitrigen Alloantikörpern ausgesprochen (DiMichele et al. 2007). Danach wird zur Akutbehandlung ein eskalierendes Behandlungsschema empfohlen (siehe Übersicht).

**Akutbehandlung bei Hämophilie-A-Patienten mit hochtitrigen Alloantikörpern**

- Begonnen wird die Behandlung mit rFVIIa in einer Dosierung von 90 µg/kgKG alle 2 h oder mit FEIBA in einer Bolusgabe von 50–100 E/kgKG alle 6–12 h, wobei eine Maximaldosis von 200 E/kgKG täglich nicht überschritten werden sollte. Eine Bewertung des Therapieerfolgs sollte bei intrazerebralen Blutungen nach 2–4 h und bei extremitätenbedrohenden Blutungen nach 8–12 h erfolgen (s. auch Querschnittsleitlinien der Bundesärztekammer).
- Ist kein Therapieerfolg erkennbar, sollte die Dosis des Bypassmedikaments erhöht werden.
- Bei erneut ausbleibendem Therapieerfolg wird das Präparat gewechselt (rFVIIa auf FEIBA oder umgekehrt). Bei erneut ausbleibendem Therapieerfolg wird die Dosis gesteigert.
- Kann mit dem Vorgehen weiterhin kein Therapieerfolg erreicht werden, wird die sequenzielle Kombination beider Präparate empfohlen. Zusätzliche Maßnahmen können in der Immunadsortion oder Plasmapherese bestehen.

### Immuntoleranztherapie (ITT)

Mit einer Immuntoleranztherapie kann bei etwa 80% der Patienten eine langfristige Eradikation des Inhibitors erreicht werden. Verschiedene Protokolle werden zur Immuntoleranztherapie eingesetzt. Der genaue Mechanimus der Immuntoleranzinduktion ist unklar. Diskutiert wird eine Depletion des Inhibitorklons, die Induktion der Bildung von Anti-Idiotyp-Antikörpern oder die Propagation spezifischer regulatorischer T-Zellen (Kempton u. White 2008).

Indikatoren für den Erfolg einer Immuntoleranztherapie sind der aktuelle und der maximale Inhibitortiter. Aktuelle Werte unter 10 BE und ein maximaler Titer unter 200 BE sind Indikatoren für ein gutes Ansprechen (DiMichele u. Kroner 2002; Mariani u. Kroner 2001). Die Erfolgsaussichten der Immuntoleranztherapie sind geringer bei Patienten mit einem hochtitrigen Inhibitor (>200 BE) und einer langandauernden Inhibitoranamnese.

Weniger eindeutig ist die Datenlage für die Dosis der verabreichten FVIII-Menge. Eine Untersuchung zeigte den besten Therapieerfolg für eine Dosis >200 IE/kgKG pro Tag – insbesondere bei hochtitrigen Hemmkörpern >500 BE haben ITT-Protokolle mit >200 IE/kgKG eine deutlich höhere Erfolgsrate als Protokolle mit geringeren Dosierungen (Mariani u. Kroner 2001). Hingegen zeigten die Registerdaten der »North American Immune Tolerance Registry« keine positive Korrelation zwischen dem Erfolg einer Immuntoleranztherapie und der verabreichten FVIII-Dosis.

Derzeit wird in einer multizentrischen internationalen Studie die Wirksamkeit einer Dosis von 200 IE/kgKG mit der einer Dosis von 50 IE/kgKG bei Hämophilie-A-Kindern mit einem Inhibitortiter >5 BE untersucht.

Drei empirisch entwickelte Protokolle werden zurzeit eingesetzt (Oldenburg 2008):

- das Bonn-Protokoll mit 150 E/kgKG 2-mal täglich (Brackmann u. Gormsen 1977),
- das Van-Crefeldt-Protokoll mit 25 IE/kgKG jeden zweiten Tag,
- das Malmö-Protokoll.

Das Bonn-Protokoll weist hohe Erfolgsraten von über 80% auch bei sehr hohen Hemmkörpertitern auf. Für das Van-Crefeldt-Protokoll werden ähnliche Erfolgsraten beschrieben, allerdings überwiegend bei niedrigtitrigen Hemmkörpern (Mauser-Bunschoten et al. 1995). Das Malmö-Protokoll umfasst eine Kombination von Immunapherese, Immunsuppression mit Kortison und Cyclophosphamid, Gabe von Immunglobulinen und hoch dosiertem FVIII. Allerdings wurde es bisher nur bei wenigen Patienten eingesetzt. Auch ist es wegen des extrakorporal zirkulierenden Blutvolumens bei Kindern nur eingeschränkt anwendbar (Freiburghaus et al. 1999).

In Deutschland wird überwiegend das Bonn-Protokoll eingesetzt (Querschnittsleitlinien der Bundesärztekammer). Bei niedrigtitrigen Hemmkörpern (<5 BE) bei Kindern kann ein Faktor-VIII-Konzentrat 3-mal wöchentlich in einer Dosierung von 50–100 E/kgKG gegeben werden, bis normale Recovery und Halbwertzeit erreicht werden. Bei niedrigtitrigen Hemmkörpern bei Erwachsenen wird eine Eliminationstherapie in der Regel nicht empfohlen. Bei Dauerbehandlung kann Faktor-VIII-Konzentrat in der Dosierung 50 E/kgKG 3-mal wöchentlich gegeben werden. Der Evidenzgrad für die Empfehlungen einer Immuntoleranztherapie (ITT) bei niedrigtitrigen Hemmkörpern ist gering, sodass der Einsatz der ITT hier kontrovers diskutiert wird.

Auch bei hochtitrigen Hemmkörpern (>5 BE) wird sowohl bei Kindern als auch bei Erwachsenen das Bonn-Protokoll empfohlen. Danach soll Faktor-VIII-Konzentrat in der Dosierung 100–200 E/kgKG 2-mal täglich bis zur mehrmonatigen Normalisierung der Recovery und Halbwertzeit verabreicht werden. Die Kombination mit FEIBA in einer Dosierung von 50 E/kgKG 2-mal täglich während der Hemmkörperelimination zur Reduktion der Blutungsneigung ist möglich. Die Blutungsbehandlung während der Hemmkörperelimination kann ebenso mit rFVIIa (initial 90 µg/kgKG oder 270 µg/kgKG als Einzelgabe) erfolgen.

Die Sicherstellung 12-stündlicher intravenöser Faktor-VIII-Gaben über lange ITT-Zeiträume stellt oft ein großes Problem für den Patienten, dessen Eltern und die Behandler dar. Der Hemmkörper tritt in der Regel in einem Alter von 1–2 Jahren auf, sodass die Implantation eines Port-Systems oft unvermeidlich ist. Da im Verlauf einer ITT bei den meisten Patienten Komplikationen bei Port-A-Caths oder z. B. Broviak-Kathetern auftreten, führen die Konsensusempfehlungen hierzu aus, wenn immer möglich auf Port-A-Caths und Broviak-Katheter zu verzichten und zu versuchen, die Faktor-VIII-Gaben durch periphervenöse Punktionen sicherzustellen. Port-A-Caths soll wegen der geringeren Infektionsrate der Vorzug z. B. gegenüber Broviak-Kathetern gegeben werden.

Die Eltern sind in die Benutzung der Katheter ausführlich anzulernen. Die Anlage einer AV-Fistel stellt eine mögliche Alternative zur Implantation eines Port-A-Caths oder Broviak-Katheters dar. Ein großes Problem ist, dass die Infektionsprobleme der Port-A-Caths und Broviak-Katheter durch Beeinträchtigung des Immunsystems den ITT-Erfolg gefährden.

Ein Einfluss des Präparatetyps auf die Immuntoleranzentwicklung wird diskutiert. Patienten, bei denen mit einem rekombinanten oder vWF-armen hochreinen FVIII-Präparat keine Immuntoleranz aufgebaut werden konnte, wurden erfolgreich mit vWF-reichen FVIII-Konzentraten therapiert. Diese klinische Beobachtung wurde bisher nicht systematisch untersucht. Aufgrund dieser unklaren Datenlage ist es üblich, mit dem Medikament die Immuntoleranztherapie zu beginnen, unter dem der Patient den Antikörper entwickelte. Eine internationale Konsensusempfehlung stellt hierzu fest, dass die ITT mit Faktor-VIII-Produkten mit und ohne Von-Willebrand-Faktor erfolgreich ist und dass es keine publizierten Daten gibt, welche die Überlegenheit eines bestimmten Präparates zeigen (DiMichele et al. 2007).

Eine Indikation zur Immuntoleranztherapie wird bei allen Patienten gestellt, die erstmalig einen Inhibitor entwickeln, sowie bei bekannten Inhibitorpatienten, die noch keine Immuntoleranztherapie erhielten, bei denen aber ein operativer Eingriff geplant ist oder regelmäßig Blutungskomplikationen und -folgen wie z. B. schwere Gelenkarthropathien auftreten.

**Definition**

Eine erfolgreiche Immuntoleranztherapie ist definiert als ein nicht mehr nachweisbarer Hemmkörper, einer FVIII-Recovery >66% des erwarteten Anstiegs und einer FVIII-Halbwertzeit >6 h.

Als partieller Erfolg wird gewertet, wenn der Hemmkörpertiter dauerhaft unter 5 BE fällt und ein Ansprechen auf FVIII zu sehen ist, auch wenn die Recovery unter 66% liegt und die Halbwertszeit unter 6 h liegt.

Eine Therapie gilt als gescheitert, wenn es über 6 Monate nicht zu einem signifikanten Abfall des Hemmkörpertiters kommt und der ausbleibende Therapieerfolg nicht anderweitig erklärt werden kann. Die internationalen Konsensusempfehlungen geben an, dass die Therapie als fehlgeschlagen zu betrachten ist, wenn sich innerhalb von 33 Monaten kein kompletter oder partieller Erfolg eingestellt hat oder es über 6 Monate nicht zu einer 20%-igen Senkung des Hemmkörpertiters gekommen ist. Die Leitlinie der Bundesärztekammer führt an, dass bei einem Versagen der Immuntoleranzinduktion die Therapie nach einem Jahr abgebrochen werden sollte.

Möglicherweise kann der Erfolg einer Immuntoleranztherapie durch immunsuppressive und immunmodulatorische Maßnahmen verstärkt werden. In diesem Zusammenhang wird besonders die Rituximab-Gabe diskutiert, die bereits in Einzelfällen erfolgreich eingesetzt wurde (Franchini u. Lippi 2008) und zurzeit in einer klinischen Studie bewertet wird.



## Literatur


Abshire T, Kenet G (2004) Recombinant factor VIIa: review of efficacy, dosing regimens and safety in patients with congenital and acquired factor VIII or IX inhibitors. J Thromb Haemost 2: 899–909

Aggarwal A, Grewal R, Green RJ (2005) Rituximab for autoimmune haemophilia a proposed treatment algorithm. Haemophilia 11: 13–19

Astermark J, Donfield SM, DiMichele DM, Gringeri A, Gilbert SA, Waters J, Berntorp E; FENOC Study Group (2007) A randomized comparison of bypassing agents in hemophilia complicated by an inhibitor: the FEIBA Astermark J, Wang X, Oldenburg J, Berntorp E, Lefvert AK; MIBS Study Group (2007) Polymorphisms in the CTLA-4 gene and inhibitor development in patients with severe hemophilia A. J Thromb Haemost 5: 263–265

Astermark J, Oldenburg J, Pavlova A, Berntorp E, Lefvert AK; MIBS Study Group (2006) Polymorphisms in the IL10 but not in the IL1beta and IL4 genes are associatedwith inhibitor development in patients with hemophilia A. Blood 107: 3167–3172

Astermark J, Oldenburg J, Carlson J, Pavlova A, Kavakli K, Berntorp E, Lefvert AK(2006) Polymorphisms in the TNFA gene and the risk of inhibitor development in patients with hemophilia A. Blood 108: 3739–3745

NovoSeven Comparative (FENOC) Study. Blood 109: 546–551

Bundesärztekammer (2008) Querschnitts-Lleitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten. Kapitel 6: Schramm W, Oldenburg J. Faktor VIII-Konzentrate, Faktor VIII / Von Willebrand-Faktor-Konzentrate, Faktor IX-Konzentrate, Ativierte Prothrombin-Komplex-Konzentrate. Köln: Deutscher Ärzte-Verlag, S 158–189

Brackmann HH, Lenk H, Scharrer I, Auerswald G, Kreuz W (1999) German recommendations for immune tolerance therapy in type A haemophiliacs with antibodies. Haemophilia 5: 203–206

Brackmann HH, Oldenburg J, Schwaab R (1996) Immune tolerance for the treatment of factor VIII inhibitors--twenty years',bonn protocol'. Vox Sang 70 Suppl 1:30-5.

Brackmann HH, Gormsen J (1977) Massive factor-VIII infusion in haemophiliac with factor-VIII inhibitor, high responder. Lancet 2: 933

Calvez T, Laurian Y, Goudemand J (2008) Inhibitor incidence with recombinant vs. plasma-derived FVIII in previously untreated patients with severe hemophilia A: homogeneous results from four published observational studies. J Thromb Haemost 6: 390–392

Cohen A, Kessler CM (1996) Acquired inhibitors. Bailleres Clin Hematol 9: 331 – 354

Collins PW, Hirsch S, Baglin TP et al. (2007) Acquired hemophilia A in the United Kingdom: a 2-year national surveillance study by the United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organisation. Blood 109: 1870–1877

Collins PW (2007) Treatment of acquired hemophilia A. J Thromb Haemost 5: 893–900

Delgado J, Jimenez-Yuste V, Hernandez-Navarro F, Villar A (2003) Acquired haemophilia: review and meta-analysis focused on therapy and prognostic factors. Br J Haematol 121: 21–35

DiMichele DM, Hoots WK, Pipe SW, Rivard GE, Santagostino E (2007) International workshop on immune tolerance induction: consensus recommendations.Haemophilia 13 (Suppl 1): 1–22

DiMichele DM, Kroner BL (2002) The North American Immune Tolerance Registry: practices, outcomes, outcome predictors. Thromb Haemost 87: 52–57

Franchini M, Lippi G (2008) Acquired factor VIII inhibitors. Blood 112: 250–255

Franchini M, Mengoli C, Lippi G, Targher G, Montagnana M, Salvagno GL, Zaffanello M, Cruciani M (2008) Immune tolerance with rituximab in congenital haemophilia with inhibitors: a systematic literature review based on individual patients' analysis. Haemophilia 14: 903–912

Franchini M, Veneri D, Lippi G, Stenner R (2006) The efficacy of rituximab in the treatment of inhibitor-associated hemostatic disorders. Thromb Haemost 96; 119–125

Freiburghaus C, Berntorp E, Ekman M, Gunnarsson M, Kjellberg B, Nilsson IM (1999) Tolerance induction using the Malmö treatment model 1982–1995. Haemophilia 5: 32–39

Garvey B (2008) Rituximab in the treatment of autoimmune haematological disorders. Br J Haematol 141: 149–169

Goudemand J, Rothschild C, Demiguel V et al. (2006) FVIII-LFB and Recombinant FVIII study groups. Influence of the type of factor VIII concentrate on the incidence of factor VIII inhibitors in previously untreated patients with severe hemophilia A. Blood 107: 46–51

Goudemand J (2004) Treatment of bleeding episodes occuring in patients with acquired hemophilia with FEIBA: the French experience. Hemophilia 10: abstract PO14

Gouw SC, van der Bom JG, Marijke van den Berg H (2007a) Treatment-related risk factors of inhibitor development in previously untreated patients with hemophilia A: the CANAL cohort study. Blood 109: 4648–54

Gouw SC, van der Bom JG, Auerswald G, Ettinghausen CE, Tedgård U, van den Berg HM (2007b) Recombinant versus plasma-derived factor VIII products and the development of inhibitors in previously untreated patients with severe hemophilia A: the CANAL cohort study. Blood 109: 4693–4697

Green D (1971) Suppression of an antibody to factor VIII by a combination of factor VIII and cyclophosphamide. Blood 37: 381–387

Green D, Lechner K (1981) A survey of 215 nonhemophilic patients with inhibitors to factor VIII. Thromb Haemost 45: 200–203

Green D (2006) The management of acquired hemophilia. Haemophilia.12(suppl 5): 32–36

Green D, Rademaker AW, Briet E (1993) A prospective, randomized trial of prednisone and cyclophosphamide in the treatment of patients with factor VIII autoantibodies. Thromb Haemost 70: 753–757

Hausl C, Ahmad RU, Sasgary M, Doering CB, Lollar P, Richter G, Schwarz HP, Turecek PL, Reipert BM (2005) High-dose factor VIII inhibits factor VIII-specific memory B cells in hemophilia A with factor VIII inhibitors. Blood 106: 3415–22
Hay CR, Baglin TP, Collins PW, Hill FG, Keeling DM (2000) The diagnosis and management of factor VIII and IX inhibitors: a guideline from the UK Haemophilia Centre Doctors' Organization (UKHCDO). Br J Haematol 111: 78–90
Hay CRM, Negrier C, Ludlam CA (1997) The treatment of bleeding in acquired hemophilia with recombinant factor VIIa: a multicenter study. Thromb Haemost 78: 3–7
Holme PA, Brosstad F, Tjonnfjord GE (2005) Acquired hemophilia: management of bleeds and immune therapy to eradicate autoantibodies. Haemophilia 11: 510–515
Kempton CL, White GC 2nd. (2008) How we treat a hemophilia A patient with a factor VIII inhibitor. Blood Sep 26. [Epub ahead of print]
Knoebl P, Derfler K (1999) Extracorporeal immunoadsorption for the treatment of haemophilic patients with inhibitors to factor VIII or IX. Vox Sang 7 (suppl 1): 57–64
Lian EC, Larcada AF, Chiu AY (1989) Combination immunosuppressive therapy after factor VIII infusion for acquired factor VIII inhibitor. Ann Intern Med 110: 774–778
Lorenzo JI, López A, Altisent C, Aznar JA (2001) Incidence of factor VIII inhibitors in severe haemophilia: the importance of patient age.Br J Haematol 113(3): 600–603
Mariani G, Kroner B Immune Tolerance Study Group (ITSG) (2001) Immune tolerance in hemophilia with factor VIII inhibitors: predictors of success. Haematologica 86: 1186–1193
Mauser-Bunschoten EP, Nieuwenhuis HK, Roosendaal G, van den Berg HM (1995) Low-dose immune tolerance induction in hemophilia A patients with inhibitors. Blood 86: 983–988
Mudad R, Kane WH (1993) DDAVP in acquired haemophilia A: case report and review of the literature. Am J Haematol 43: 295–299
Nemes L, Pitlik E (2000) New protocol for immune tolerance induction in acquired hemophilia. Haematologica 85: 64–68
Oldenburg J (2008) Immuntoleranztherapie bei Hämophilie A. Hämostaseologie 28(Suppl 1): S23–S25
Oldenburg J, Ivaskevicius V, Schröder J, Müller CR, Ganguly A (2006) Genetic background and inhibitors in previously untreated or minimally treated young patients with severe haemophilia A treated with sucrose-formulated recombinant factor VIII. Thromb Haemost 95: 903–905
Oldenburg J, Pavlova A (2006) Genetic risk factors for inhibitors to factors VIII and IX. Haemophilia 12: 15–22; review
Oldenburg J, Picard JK, Schwaab R, Brackmann HH, Tuddenham EG, Simpson E (1997) HLA genotype of patients with severe haemophilia A due to intron 22 inversion with and without inhibitors of factor VIII. Thromb Haemost 77: 238–42
Petrovic M, Derom E, Baele G (2000) Cyclosporine treatment of acquired hemophilia due to factor VIII antibodies. Haematologica 85: 895–896
Sallah S (2004) Treatment of acquired haemophilia with factor eight inhibitor bypassing activity. Haemophilia 10: 169–173
Santagostino E, Mancuso ME, Rocino A, Mancuso G, Mazzucconi MG, Tagliaferri A, Messina M, Mannucci PM (2005) Environmental risk factors for inhibitor development in children with haemophilia A: a case-control study. Br J Haematol 130: 422–427
Schwartz RS, Gabriel DA, Aledort LM, Green D, Kessler CM (1995) A prospective study of treatment of acquired (autoimmune) factor VIII inhibitors with high-dose intravenous gammaglobulin. Blood 86: 797–804
Stasi R, Brunetti M, Stipa E, Amadori S (2004) Selective B-cell depletion with rituximab for the treatment of patients with acquired hemophilia. Blood 103: 4424–4428
Wiestner A, Cho HJ, Asch AS et al. (2002) Rituximab in the treatment of acquired factor VIII inhibitor. Blood 100: 3426–3428
Zeitler H, Ulrich-Merzenich G, Hess L, Konsek E, Unkrig C, Walger P, Vetter H, Brackmann HH (2005) Treatment of acquired hemophilia by the Bonn-Malmo Protocol: documentation of an in vivo immunomodulating concept. Blood 105: 2287–2293
Zeitler H, Ulrich-Merzenich G, Goldmann G, Vidovic N, Brackmann HH, Oldenburg J (2009) The Relevance of the Bleeding Severity in the treatment of Acquired Haemophilia – an update of a single Centre Experience in 67 Patients. Haemophilie [in press]

## 30.6 Von-Willebrand-Erkrankung

*R. Schneppenheim, U. Budde*



### Einleitung

Die Von-Willebrand-Erkrankung (vWE) gehört zu den häufigen hämorrhagischen Diathesen. Ausgelöst wird sie durch eine angeborene oder erworbene Störung des Von-Willebrand-Faktors. Häufige Symptome sind Schleimhautblutungen, gastrointestinale Blutungen, Menorrhagien und verlängerte Blutungen nach Verletzungen und Operationen. Schwere Muskelblutungen und Gelenkblutungen sind eine Rarität.

Die Diagnosestellung erfolgt durch Bestimmung der Konzentration und der Funktionsfähigkeit des Von-Willebrand-Faktors. Zu den therapeutischen Optionen gehören die lokale Blutstillung, die Stimulation der endogenen Von-Willebrand-Faktor-Freisetzung durch DDAVP und die Substitution mit Von-Willebrand-Faktor. Hinzu kommt bei der erworbenen Form die Therapie der Grunderkrankung.

### 30.6.1 Hereditäre Von-Willebrand-Erkrankung

#### Pathogenese und Klassifikation

Ursache einer Von-Willebrand-Erkrankung (vWE) ist ein funktionell gestörter oder ein in nicht ausreichender Konzentration vorliegender Von-Willebrand-Faktor (vWF). Entsprechend dem komplexen Syntheseweg und der weiteren plasmatischen Prozessierung können Störungen auf verschiedenen Ebenen auftreten (▶ Kap. 23). Dementsprechend werden verschiedene vWE-Subtypen unterschieden.

Die erste Übersicht wurde 1987 von Ruggeri publiziert (Ruggeri 1987). Zwar handelte es sich eher um eine Liste aller bekannten Varianten der vWE, doch wurde sie die Basis für die Klassifikation im praktischen Umgang. Die vWF-Multimer-Analyse diente hierbei zur Charakterisierung der meisten Subtypen. Nachteilig bei dieser und der folgenden Klassifikationen war ihre Beschränkung auf phänotypische Daten bei nur geringem Wissen über die zugrunde liegenden Mechanismen. 2006 erfolgte daher eine Modifikation (Tab. 30.18). Hier wird neben der vWE Typ 1 und Typ 3 (quantitative Defekte) die vWE Typ 2 in 4 Untergruppen aufgeteilt.

#### vWE Typ1

Bei der vWE Typ 1 ist ausschließlich die Konzentration des vWF erniedrigt. Eine vWE Typ 1 kann durch 3 Mechanismen entstehen, die auch kombiniert vorkommen können:
- Reduzierte Syntheseleistung durch verminderte Genexpression.
- Intrazelluläre Depletion eines mutierten vWF-Moleküls. Bei Entstehung stark abnorm gefalteter Produkte werden diese intrazellulär zerstört und nicht sekretiert.

**Tab. 30.18.** Die derzeit gültige Klassifikation der vWE (Sadler et al. 2006) sowie der entsprechende frühere (Sub-)Typ

| Typ | Suptyp | Beschreibung |
|---|---|---|
| 1 | | Quantitativer Defekt, keine Funktionsstörung nachweisbar |
| 2 | | Qualitativer Defekt |
| | A | Gestörte Interaktion des vWF mit Thrombozyten durch das Fehlen großer Multimere |
| | B | Gesteigerte Interaktion des vWF mit dem thrombozytären Rezeptor Glykoprotein Ib |
| | M | Gestörte Interaktion vWF mit Thrombozyten ohne Fehlen großer Multimere |
| | N | Verminderte FVIII-Bindungskapazität |
| 3 | | Vollständiges Fehlen des vWF im Plasma und im Gewebe |

Übrig bleiben die in geringerer Konzentration produzierten normalen Dimere. Diese durchlaufen den normalen Prozess der Multimerisierung, Speicherung und Sekretion.
- Beschleunigter Abbau in der Zirkulation.

#### vWE Typ 2

Beim Typ 2 wird ein funktionell gestörter vWF synthetisiert. Prinzipiell sind für diesen Typ 5 verschiedene molekulare Pathomechanismen verantwortlich, die allein oder in Kombination wirksam sein können (Meyer et al. 2001): Es sind Mutation, die
- auf funktionelle Domänen beschränkt sind,
- zu einer Störung der posttranslationalen Biosynthese führen,
- zu einem gestörten intrazellulären Transport der großen vWF-Multimere führen,
- zu einer Dysfunktion des vWF durch abnorme Faltung führen,
- zu einer gesteigerten Proteolyse durch ADAMTS13 führen.

**Typ 2A.** Die Variante 2A weist eine gestörte Thrombozyteninteraktion durch das Fehlen oder eine Verminderung des hochmolekularen vWF auf. Die Mechanismen, die zu einer Verminderung oder zum Fehlen großer Multimere führen, sind sehr unterschiedlich, auch der Erbgang für diese Subtypen variiert. Die Reduktion der hochmolekularen Multimere lässt sich entweder auf einen gestörten intrazellulären Transport (Gruppe-I-Mutationen) oder ihre verstärkte Proteolyse durch die ADAMTS 13(Gruppe-II-Mutationen) erklären. Auch durch eine defekte posttranslationale Modifikation kommt es zu einer Defizienz großer Multimere. Charakteristisch sind Defekte der Dimerisierung am karboxyterminalen Ende des vWF und am Aminoterminus, wo die weitere Polymerisierung der vWF-Dimere zu Multimeren katalysiert wird.

Am Aminoterminus finden sich Mutationen in der D1- und D2-Domäne des vWF-Propeptids. Beide Domänen sind notwendig, um die intermolekulare Disulfidbrückenbildung in der D3-Domäne des reifen vWF zu katalysieren. Aber auch Mutationen in der D3-Domäne führen zu Multimerisierungsdefekten. Hierbei handelt es sich meist um Cysteinmutationen. Der Subtyp 2A wird meist dominant vererbt, ein rezessiver Erbgang ist selten.

Neben der Verminderung oder dem Verlust großer Multimere zeigt das Multimermuster bei den Multimerisierungsdefekten eine aberrante Triplettstruktur. Die proteolytische Prozessierung durch ADAMTS13 fehlt entweder vollständig oder ist deutlich bis leicht vermindert.

**Typ 2B.** Hier ist der Grund für das Fehlen großer Multimere eine erhöhte Affinität des vWF zum GP Ib. Lediglich die

seltenen Varianten mit einer nur gering erhöhten Affinität weisen ein normales Multimermuster auf (Typ 2B New York/Malmö). Der Vererbungsgang ist dominant.

**Typ 2M.** Dieser durch Sadler (1994) eingeführte Subtyp, der dominant vererbt wird, schließt Patienten mit einer erniedrigten plättchenabhängigen Funktion des vWF ein, die nicht auf das Fehlen der hochmolekularen Multimere zurückzuführen ist. Die diagnostischen Kriterien sind allerdings so unscharf, dass Patienten mit der gleichen Mutation im vWF-Gen von unterschiedlichen Arbeitsgruppen als Typ 1, Typ 2A oder 2M bezeichnet werden. Auch wird auf weitere Differenzierungseigenschaften, wie z. B. eine aberrante Struktur individueller Multimere oder die Präsenz abnorm großer sogenannter supranormaler Multimere keine Rücksicht genommen. Wegen der defekten Bindung an GP Ib oder einer abnormen Faltung, die eine effektive Prozessierung durch ADAMTS13 verhindert, ist ein aberrantes Multimermuster zu erwarten.

**Typ 2N.** Hier liegt der Defekt in der FVIII-Bindungsregion des vWF. Es treten entweder homozygote oder compound-heterozygote FVIII-Bindungsdefekte auf oder Compound-Heterozygotie für einen FVIII-Bindungsdefekt und ein Null-Allel. Daher kann der Phänotyp entweder vollständig eine Hämophilie A vortäuschen oder kann zusätzlich mit einer vWE Typ 1 einhergehen. Einige Mutationen (meist Cysteinmutationen) verändern außerdem die vWF-Multimerstruktur. Der Erbgang ist rezessiv.

### vWE Typ 3

**! Der Typ 3 ist die schwerste Form der vWE und durch ein vollständiges Fehlen des vWF charakterisiert.**

Auf der molekularen Ebene finden sich in den meisten Fällen große Deletionen und trunkierende Mutationen. Nur wenige homozygote Missense-Mutationen wurden beschrieben. Hier lassen sich oft geringe Mengen an vWF nachweisen, allerdings mit einer fehlenden Multimerstruktur.

## Epidemiologie

Die Prävalenz der vWE wird mit einer riesigen Spannweite zwischen <0,01% und mehr als 1% angegeben. Dies ist davon abhängig, ob Laborwerte oder klinische Symptome Grundlage der Untersuchung waren. Laboranalytisch kann die vWE bei etwa 1% der Bevölkerung nachgewiesen werden. Jedoch weist nur ein geringer Teil dieser Personen eindeutige Symptome auf (1:3.300 bis 1:10.000). Für Schweden mit einer sehr guten Erfassung von Patienten mit hämorrhagischer Diathese wurde eine Prävalenz von 125 Fällen pro 1 Million Einwohner errechnet.

## Klinik

Führende Symptome bei der vWE Typ 1 sind Epistaxis, Hämatomneigung, Hypermenorrhoe und Schleimhautblutungen. Gelenkblutungen, Petechien sowie gastrointestinale Blutungen sind eher selten. Nach Zahnextraktion und bei Eingriffen im Schleimhautbereich (HNO) treten Nachblutungen häufiger auf, abdominelle Eingriffe werden seltener durch Blutungen kompliziert.

Bei der vWE Typ 2 ist das Blutungsspektrum ähnlich dem der vWE Typ 1. Die Blutungsneigung, v. a. die Blutungsgefahr nach Verletzungen oder Operationen, wird als gravierender eingeschätzt.

Beim Typ 3 besteht eine deutliche Blutungsneigung. Hämatome und Schleimhautblutungen, Hypermenorrhoe treten regelhaft auf. Etwa bei der Hälfte der Patienten kommt es auch zu Gelenkblutungen, die für die anderen Typen sehr unüblich sind. Ebenso sind gastrointestinale Blutungen nicht selten.

Abhängig vom Schweregrad leiden unbehandelt 74–100% der Frauen mit einer vWE unter Menorrhagien. Oft ist es schwierig, eine Menorrhagie anamnestisch zu erfassen, weil die Betroffenen nicht zur Kenntnis nehmen, dass sie übermäßig bluten. Die Rate von Hysterektomien aufgrund von Menorrhagien liegt bei Frauen mit einer vWE zwischen 8 und 23%.

**! Der vWF steigt im Verlauf von Schwangerschaften deutlich auf den etwa 3-fachen Ausgangswert an, wobei der stärkste Anstieg im dritten Trimenon zu beobachten ist. Dementsprechend geht dies meist mit einer Verbesserung der Hämostase einher.**

Vor allem bei Patientinnen mit Typ 1 normalisiert sich die Hämostase völlig. Daher verlaufen die meisten Geburten bei Patientinnen mit vWE ohne größere Blutverluste, auch wenn es Ausnahmen gibt. Nach der Geburt fällt die vWF-Konzentration wieder ab und der Wochenfluss kann wieder blutig erscheinen, wenn eine ausreichende Hämostase nicht mehr gewährleistet ist.

Bei Frauen mit einer vWE Typ 2B kommt es parallel zum Anstieg des vWF zu einer mehr oder minder stark ausgeprägten Thrombozytopenie mit einer erhöhten Blutungsneigung. Bei Patientinnen mit einer schweren vWE Typ 3 steigt der vWF nicht an.

## Diagnostik

Zur Diagnostik einer vWE stehen neben den anamnestischen Angaben und klinischen Befunden eine Reihe von laboranalytischen Testverfahren zur Verfügung (▶ Kap. 65). Anhand dieser Parameter ist eine Unterteilung in die verschiedenen vWE-Subtypen möglich (◻ Tab. 30.20).

Für die Diagnose des Typ 1 wurden im Jahr 2005 vorläufige Kriterien publiziert (Sadler u. Rodeghiero 2005). Es handelt sich hier um Konsensuskriterien von Experten und

**Tab. 30.19.** Häufigkeit (%) von Blutungssymptomen bei Patienten mit vWE und Normalen. (Rodeghiero u. Castaman 2001)

| Symptome | Italienische Patienten mit vWE (n=1286) | | | Skandinavien | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Typ 1 (n=944) | Typ 2 (n=268) | Typ 3 (n=74) | vWE (n=264) | Gesunde (n=500) |
| Epistaxis | 56 | 63 | 74 | 62 | 5 |
| Menorrhagien | 31 | 32 | 32 | 60 | 25 |
| Blutung nach Zahnextraktion | 31 | 39 | 53 | 51 | 5 |
| Hämatome | 14 | 19 | 31 | 49 | 12 |
| Blutung aus kleinen Wunden | 36 | 40 | 50 | 36 | 0.2 |
| Schleimhautblutung | 30 | 37 | 48 | 35 | 7 |
| Postoperative Blutung | 20 | 23 | 41 | 28 | 1 |
| Postpartale Blutung | 17 | 18 | 26 | 23 | 19 |
| Gastrointestinale Blutung | 5 | 11 | 18 | 14 | 1 |
| Gelenkblutung | 2 | 5 | 42 | 8 | 0 |
| Hämaturie | 2 | 4 | 11 | 7 | 1 |
| Hirnblutung | 0,5 | 0,3 | 8 | Keine Angaben | 0 |



**Tab. 30.20.** Charakteristische Befundkonstellation der verschiedenen Typen der vWE

| Typ | Vererbung | BZ | VIII:C | vWF:Ag | vWF:RCo | vWF:CB | RIPA | Multimere im Plasma | Multimere in Plättchen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | AD | ↑/N | N/↓ | ↓ | ↓ | ↓ | N | N/abnormal* | N |
| 2A | AD/(AR) | ↑ | N/↓ | ↓/N | ↓↓ | ↓↓ | ↓/N | Abnormal | Abnormal/N |
| 2B | AD/AR | ↑ | N/↓ | ↓/N | ↓↓/↓ | ↓↓ | ↑↑ | Abnormal | N |
| 2M | AD | ↑/N | N/↓ | ↓/N | ↓/N | N | ↓/N | Abnormal | N/abnormal |
| 2N | AR | N | ↓↓ | N/↓ | N/↓ | N/↓ | N | N/abnormal | N |
| 3 | AR | ↑↑ | ↓↓ | Nd | nd | Nd | Nd | Nd | Nd |

*AD* autosomal dominant; *BZ* Blutungszeit; *AR* autosomal rezessiv; *N* normal, *Nd* unterhalb der Nachweisgrenze; *VIII:C* Faktor-VIII-Aktivität; *vWF:Ag* Von-Willebrand-Antigen; *vWF:RCo* Ristocetin-Kofaktor-Aktivität; *vWF:CB* Kollagenbindungsfähigkeit; *RIPA* Ristocetin-induzierte Plättchenaggregation
*Der qualitative Defekt darf die Funktion des vWF nicht stören, Desmopressin ist effektiv

nicht um evidenzbasierte Daten. Nachdem große Studien zum Typ 1 in Europa und Kanada durchgeführt wurden, standen genügend Daten zur Verfügung, um auch evidenzbasierte Diagnosekriterien aufzustellen (Tosetto et al. 2008). Es zeigte sich, dass das familiäre Vorkommen einen höheren Stellenwert hat als die Konzentration des vWF und dass diese wiederum eine größere Bedeutung hat als die Schwere der Blutungssymptome.

Die oben genannten Studien konnten zeigen, dass selbst in Zentren mit großer Expertise in der Diagnostik der vWE die Rate an Fehldiagnosen hoch ist (20–38%). Zudem ist die Durchführung einer sensitiven Multimeranalyse zum Ausschluss qualitativer Veränderungen durch keine andere Methode zu ersetzen. Die Bildung einer Ratio aus vWF:RCo und vWF:Ag z. B. hatte eine Sensitivität in dieser Hinsicht von weniger als 60%.

Für die Diagnose der Subtypen des Typs 2 ist eine Batterie von Tests erforderlich (Tab. 30.20, Lee et al. 2008). Die Subtypen 2A, B und M erforden die Durchführung von vWF:Ag, vWF:RCo und den RIPA-Test. Eine größere Sicherheit bei der Diagnose bieten die vWF-Multimere. Zusätzlich sind die Bestimmung der vWF-Kollagenbindungs-

fähigkeit und des vWF-Propeptids hilfreich. Der Subtyp 2N wird durch Bestimmung der FVIII-Bindungsfähigkeit diagnostiziert. Da Varianten mit Strukturdefekten beschrieben sind, ist auch hier die Multimeranalyse hilfreich.

### Therapie

Die Therapie sollte entsprechend dem klinischen Schweregrad, dem Blutungsrisiko und dem Typ der vWE geplant werden. Patienten mit einer leichten Verlaufsform benötigen nur selten eine medikamentöse Therapie. In vielen Fällen kann durch eine lokale Behandlung wie einem Druckverband an der Blutungsstelle eine Blutstillung erreicht werden.

Zur medikamentösen Therapie der vWE stehen mit Desmopressin und vWF-Konzentraten 2 unterschiedliche Ansätze zur Verfügung, die entsprechend dem Schweregrad, dem Blutungsrisiko und dem Typ der vWE eingesetzt werden.

#### Stimulationstherapie mit Desmopressin (DDAVP)

DDAVP ist ein Vasopressinanalogon, das die Ausschüttung von vWF aus den Weibel-Palade-Bodies induziert (▶ Kap. 50.1). In der Behandlung der vWE vom Typ 1 gilt DDAVP als Basistherapeutikum, dessen Effektivität in einer Vielzahl von klinischen Studien belegt worden ist (Mannucci et al. 1977; Mannucci 1997; Nichols et al. 2008).

**! Nach der parenteralen Gabe von 0,3 µg/kgKG DDAVP erreichen die FVIII- und vWF-Plasmaspiegel ihr Maximum innerhalb der ersten Stunde und fallen dann über 4–8 h wieder ab. Meist ist ein Anstieg auf etwa das 3- bis 4-fache des Basalwerts zu erreichen.**

Während bei Patienten mit einem Typ 1 nach DDAVP-Stimulation für einige Zeit hochmolekulare vWF-Multimere zirkulieren, wird bei Typ-2-Patienten dysfunktioneller vWF sekretiert.Trotzdem kann in Einzelfällen auch eine Erhöhung der Plasmakonzentration an nicht voll funktionsfähigem vWF einen blutstillenden Effekt induzieren. Bei den meisten Patienten mit einem Typ 2 ist die DDAVP-Gabe jedoch nicht erfolgreich (Federici et al. 2004). Möglicherweise kann die DDAVP-Gabe bei einigen Patienten sogar die Blutungsneigung verschlimmern. So wird diskutiert, dass die Freisetzung einer großen Menge an dysfunktionellem vWF zu einer Rezeptorblockade führt, die möglicherweise eine nachfolgende Therapie mit vWF-Konzentraten erschwert.

Patienten mit einem Typ 2B können nach DDAVP-Gabe mit einer Thrombozytopenie reagieren. Deswegen galt die DDAVP-Gabe bei Patienten mit einem Typ 2B bisher als kontraindiziert. Inzwischen wurde jedoch mehrfach der erfolgreiche Einsatz von DDAVP bei diesem Patientenkollektiv berichtet (Castaman u. Rodeghiero 1996), sodass der Typ 2B nicht mehr länger als kontraindiziert angesehen werden kann.

Neben der parenteralen DDAVP-Gabe ist eine intranasale Applikation möglich. Grundsätzlich ist DDAVP daher auch zur Selbstbehandlung geeignet.

**Cave**

Wegen der Gefahr schwerer Elektrolytentgleisungen bei unkontrollierter Anwendung sollte die Indikation zur patientenkontrollierten DDAVP-Gabe restriktiv gestellt werden.

Nach der DDAVP-Anwendung müssen die Speicherorganellen wieder aufgefüllt werden. Wegen der Größe des vWF-Moleküls und des komplizierten Synthesewegs ist dieser Prozess zeitaufwendig und daher ist eine DDAVP-Gabe früher als 12 h nach Erstgabe nicht wirksam.

Praktisch tritt immer eine »Flush-Symptomatik« als Nebenwirkung der DDAVP-Therapie auf, auch Kopfschmerzen sind recht häufig. Insbesondere beim Typ 2B können diese Nebenwirkungen sehr ausgeprägt sein.

#### Substitutionstherapie mit Von-Willebrand-Faktor

Von-Willebrand-Faktor-Konzentrate und vWF-reiche Faktor-VIII-Konzentrate stehen zur Behandlung der schweren vWE zur Verfügung. Die Substitution mit vWF-Konzentrat erfolgt körpergewichtsadaptiert. Die Dosis und die Dauer der Behandlungsintervalle richten sich nach dem Schweregrad der vWE und der aktuellen Blutungssituation.

Zur Behandlung von Blutungen werden 25–50 IE eines der oben genannten Konzentrate verabreicht und die Substitution bis zur Blutstillung 12-stündlich wiederholt. Nach Erreichen der Blutstillung erfolgt eine tägliche vWF-Substitution bis zur vollständigen Wundheilung. Entsprechend der klinischen Symptomatik können die Intervalle zwischen den vWF-Gaben verlängert werden. Neben der klinischen Symptomatik sind zur Überwachung der Therapieeffektivität das vWF-Antigen und der Ristocetin-Kofaktor geeignete Parameter.

Bei Patienten mit einem Typ 3 besteht nach rezidivierenden Gelenk- und Muskelblutungen eine Indikation zur Dauertherapie. Die benötigte Dosierung muss patientenspezifisch ermittelt werden. Eine mögliche Nebenwirkung der Dauersubstitutionstherapie ist eine Inhibitorentwicklung. Meist handelt es sich um präzipitierende Antikörper, die besonders Patienten mit einer großen Deletion des vWF-Gens entwickeln.

Vor operativen Eingriffen, die mit einem hohen Blutungsrisiko verbunden sind, wird auch bei DDAVP-sensitiven Patienten zur Blutungsprophylaxe die präoperative Gabe von vWF-Konzentrat in einer Dosierung von 25–50 IE/kgKG empfohlen. Die postoperative Wiederho-

**Tab. 30.21.** Richtgrößen für die Dosierung von Faktor-VIII-vWF-Konzentraten bei Patienten, die nicht mit Desmopressin behandelt werden können

| Art des Eingriffs/Blutungstyp | Dosis [IE/kg] | Frequenz | Kontrollparameter |
|---|---|---|---|
| Große Operationen | 50 | Alle 12 h oder täglich | vWF:Ag oder vWF:RCo (>50% bis zur Wundheilung) |
| Kleinere chirurgische Eingriffe | 30 | Täglich oder jeden 2. Tag | vWF:Ag oder vWF:RCo (>50% bis zur Wundheilung) |
| Zahnextraktion | 20 | Einmalig | |
| Spontane oder posttraumatische Blutung | 20 | Einmalig | |

*vWF:Ag* Von-Willebrand-Antigen; *vWF:RCo* Ristocetin-Kofaktoraktivität

lung der vWF-Gabe ist abhängig von der klinischen Situation (Tab. 30.21).

Präparate mit rekombinant hergestelltem vWF stehen kurz vor der klinischen Erprobung. Sie dürften in Zukunft neben den plasmatischen Konzentraten für die Therapie zur Verfügung stehen.



## 30.6.2 Erworbene Von-Willebrand-Erkrankung (evWE)

### Pathophysiologie

Bei dem meisten Patienten mit evWE wird der vWF in normaler, nicht selten sogar erhöhter Konzentration synthetisiert und in das Plasma sekretiert. Die quantitativen und/oder qualitativen Veränderungen des vWF entstehen erst nach der Synthese durch unterschiedliche Pathomechanismen, die typisch für die jeweiligen Erkrankungen sind, jedoch nicht selten in Kombination auftreten (Tab. 30.22).

Wann immer pathologisch erhöhter Scherstress auftritt (Aortenstenose, Herzunterstützungssysteme, angeborene Herzfehler, Gefäßmalformationen, schwere Arteriosklerose), wird der vWF aktiviert und bindet vermehrt an seine Rezeptoren, die entweder auf dem durch den Scherstress ebenfalls aktivierten Endothel oder auf Thrombozyten lokalisiert sind. Der gebundene vWF unterliegt anschließend einer Proteolyse durch ADAMTS13, die zu einem Verlust der großen Multimere und der gesteigerten Bildung von proteolytischen Fragmenten führt. Dieser Mechanismus wurde kürzlich auch experimentell bestätigt (Shim et al. 2008).

Vor allem bei Thrombozythämien sind die Rezeptoren auf der Thrombozytenoberfläche vermehrt. Obwohl die Thrombozyten nicht aktiviert sind, reicht die physiologische Adhäsion in den Gebieten mit hohem Scherstress aus, um die besonders großen Multimere aus dem Plasma zu entfernen. Auch hier werden sie nach erfolgter Bindung durch ADAMTS13 proteolysiert und so endgültig aus dem Plasma entfernt. Ebenso wurde funktioneller ADAMTS13 auf der Thrombozytenoberfläche nachgewiesen. In der Publikation

**Tab. 30.22.** Veränderungen des vWF durch pathogenetische Mechanismen, die bei den verschiedenen Erkrankungen wirken

| Mechanismus | Klinische Konstellation |
|---|---|
| Präzipitierende Antikörper gegen vWF | – Lymphoproliferative Erkrankungen<br>– Neoplasien<br>– Immunologische Erkrankungen |
| Adsorption des vWF an maligne Zellklone oder andere Zelloberflächen | – Lymphoproliferative Erkrankungen<br>– Neoplasien<br>– Myeloproliferative Erkrankungen |
| Verstärkte Proteolyse des vWF | – Myeloproliferative Erkrankungen<br>– Urämie<br>– Ciprofloxacin<br>– Hyperfibrinolyse<br>– Lysetherapie |
| Pathologischer Scherstress | – Kongenitale Herzerkrankungen<br>– Aortenstenose<br>– Herzunterstützungssysteme<br>– Endokarditis<br>– Gefäßmalformationen (M. Osler, Kasabach-Merritt-Syndrom)<br>– Schwere Arteriosklerose<br>– β-Thalassämie |
| Verminderte Synthese des vWF | – Unterfunktion der Schilddrüse |
| Medikamenten-assoziiert | – Valproinsäure<br>– Ciprofloxacin |

von Shim und Mitarbeitern wurde auch dieser Mechanismus experimentell untermauert. Die Autoren konnten zeigen, dass die proteolytische Spaltung exponentiell mit steigender Thrombozytenzahl zunimmt (Shim et al. 2008).

Im Gegensatz dazu gehen lymphoproliferative Erkrankungen meist mit einer deutlichen Verminderung des vWF und einem Verlust der großen Multimere einher. In Verdacht stehen Autoantiköper, die zur Immunkomplexbildung und verstärkter Elimination des vWF führen. Allerdings entgehen diese Antikörper oft dem Nachweis. Daher wird eine Adsorption des vWF an Antikörper diskutiert, die

an der Oberfläche von B-Zellen oder an andere Zelloberflächen fixiert sind. Zusätzlich wird eine bevorzugte Bindung der Antikörper an die großen Multimere diskutiert.

Nicht selten führt eine verstärkte Proteolyse durch ADAMTS13 oder anderer Proteasen wie Plasmin oder Calpain zum Verlust großer Multimere. Die dabei entstehenden Spaltprodukte haben sehr ähnliche Größen. Die durch ADAMTS13 hervorgerufene verstärkte Proteolyse wurde bereits für kardiovaskuläre und myeloproliferative Erkrankungen beschrieben. Sie tritt auch bei der terminalen Niereninsuffizienz und bei Behandlung mit Ciprofloxacin auf. Eine durch Plasmin induzierte verstärkte Proteolyse wurde für Hyperfibrinolyse und eine Lysetherapie beschrieben.

Die generell verminderte Eiweißsynthese bei der Hypothyreose kann auch für eine evWE verantwortlich sein. Wegen der sehr geringen Blutungsneigung ist sie von untergeordneter Bedeutung.

Um den Blick für die erworbene vWE zu schärfen, wurde von der International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) eine Internetseite geschaffen, in der Patienten mit erworbener vWE diskutiert werden können. Hier finden sich auch aktualisierte Literatur und Adressen von Ärzten mit besonderer Erfahrung auf diesem Gebiet (www.intreavws.com).

### Epidemiologie

Die evWE wurde erstmals im Jahr 1968 von Simone und Mitarbeitern bei Patienten mit Autoimmunerkrankungen beschrieben. Im Rahmen eines retrospektiven internationalen Registers (Federici et al. 2000) wurden zwischen 1968 und 1999 publizierte Daten ausgewertet. Unter 266 beschriebenen Patienten waren die Diagnosen lymphoproliferative Erkrankungen (30%), myeloproliferative Erkrankungen (18%) und kardiovaskuläre Erkrankungen (12%) am häufigsten benannt.

Im Jahr 2007 stellten wir in unserem Labor bei 180 (19%) aller Patienten mit vWE die (Verdachts-)Diagnose einer evWE. Führend waren hier mit 85 Fällen (47%) kardiovaskuläre Erkrankungen, danach mit 48 Fällen (27%) myeloproliferative Erkrankungen und mit 32 Fällen (18%) lymphoproliferative Erkrankungen, die die gravierendsten Veränderungen des vWF aufwiesen.

**! Es fällt eine deutliche Zunahme der Diagnose einer evWE bei kardiovaskulären Erkrankungen auf (von 21% vor dem Jahr 2000 auf >40% in den letzten Jahren).**

### Klinik

#### Kardiovaskuläre Erkrankungen

Die evWE bei angeborenen Herzfehlern wurde bereits 1986 von Gill und Mitarbeitern beschrieben. Bei komplexen Vitien normalisiert ein operativer Eingriff die Strömungsverhältnisse nicht ausreichend, sodass in vielen Fällen die evWE persistiert. Entwickelt sich in der Folge eine pulmonale Hypertonie, finden wir fast immer eine erworbene vWE mit klinisch signifikanter Blutungsneigung.

Im Erwachsenenalter fallen v. a. Patienten mit Aortenstenosen durch eine hämorrhagische Diathese auf (Vicentelli et al. 2003). Die Koinzidenz von Aortenstenose und gastrointestinalen Blutungen ist als Heyde-Syndrom bekannt (Heyde 1958). Hier konnte belegt werden, dass für diese Blutungen ein funktionell abnormer vWF verantwortlich ist. Aktuelle Publikationen berichten v. a. bei den Herzunterstützungssystemen (sog. künstlichen Herzen) über gravierende, selbst tödliche Blutungskomplikationen (Geisen et al. 2008, Thiede et al. 2008). Hinzu kommt, dass alle Patienten einer kombinierten Antikoagulation mit oralen Antikoagulanzien und einer meist dualen Plättchenfunktionshemmung bedürfen.

Ein weiterer Mechanismus für eine evWE im höheren Alter ist die durch arteriosklerotische Prozesse induzierte zunehmende Einengung des Gefäßlumens im arteriellen Gefäßsystem. Erreicht hierdurch der Scherstress pathologische Werte, kommt es zum Verlust großer Multimere. Oftmals bleibt der Defekt der primären Hämostase klinisch stumm und manifestiert sich erst, wenn ein zweiter Defekt (z. B. der sekundären Hämostase) hinzukommt. So können Patienten unerwartet lebensbedrohliche Hirnblutungen kurz nach Beginn einer oralen Antikoagulation entwickeln.

Patienten mit Endokarditiden v. a. der Aortenklappe haben gelegentlich einen Verlust der großen Multimere und können gravierende Blutungskomplikationen entwickeln.

#### Essenzielle Thrombozythämie und reaktive Thrombozytose

Zu den häufigen Komplikationen myeloproliferativer Erkrankungen zählen Thrombose und Blutungen. Überwiegen bei der essenziellen Thrombozythämie Thrombosen, so fallen die Polycythaemia vera und v. a. die Osteomyelofibrose durch Hämorrhagien auf. Der Verlust großer Multimere nimmt mit steigender Thrombozytenzahl zu. Dies korreliert mit der Blutungsneigung. Während unterhalb einer Thrombozytenzahl von $1.000 \times 10^9$/l Thromboembolien führend sind, herrschen bei Zahlen über $2.000 \times 10^9$/l Blutungen vor (Michiels et al. 2001).

Auch bei reaktiven Thrombozytosen sind die großen vWF-Multimere in Abhängigkeit von der Thrombozytenzahl reduziert. Es treten nur sehr selten hämorrhagische Komplikationen auf (Budde et al. 1993).

#### Lymphoproliferative Erkrankungen

Bei lymphoproliferativen Erkrankungen ist der vWF häufig vermindert. Dadurch wird der FVIII nicht ausreichend stabilisiert, mit der Folge einer kombinierten Störung der pri-

mären und sekundären Hämostase. Gravierende Blutungskomplikationen in Form großflächiger Hautblutungen oder gastrointestinaler Blutungen sind typisch. Sie stellen in den meisten Übersichten die größte Gruppe dar und sind der Prototyp einer erworbenen vWE, hervorgerufen durch postulierte Antikörper gegen den vWF (Federici et al. 2000; Veyradier et al. 2000).

### Andere Erkrankungen

Es sind nur wenige Fälle mit einer tumorassoziierten evWE beschrieben. Patienten mit Unterfunktion der Schilddrüse haben eine generelle Eiweißmindersynthese, die auch den vWF betrifft (Dalton et al. 1987). Daher kann es bei ihnen zu einer milden Störung der primären Hämostase kommen. Jährlich stellen wir bei 3–5 Patienten die Diagnose einer evWE im Rahmen einer Urämie. Hier ist problematisch, dass der deutlich erhöhte vWF eine effektive Therapie schwierig machen kann. Etwas häufiger kommt eine evWE bei Patienten mit Hepatopathien, v. a. bei Leberzirrhose und Hepatitis-C-Infektionen vor. Auch hier ist der vWF meist deutlich erhöht und die Rezeptorblockade durch den hohen dysfunktionellen vWF kann zu Problemen bei der Therapie führen.

Eine evWE Typ 1 kommt im Rahmen einer Behandlung mit Valproinsäure vor. Der zugrunde liegende Mechanismus ist unklar.

30

### Diagnostik

Zur Bestätigung einer evWE müssen die in ▶ Kap. 65 beschriebenen Tests eingesetzt werden. Der Verdacht auf eine erworbene Form erfordert eine sorgfältige Erhebung der Eigen- und Familienanamnese. Zudem ist die Antikörperdiagnostik ein integraler Bestandteil.

### Therapie

**! Eine kausale Therapie der evWE ist die Behandlung der Grundkrankheit.**

Bei oberflächlichen Blutungen kann eine lokale Behandlung wie ein Druckverband an der Blutungsstelle ausreichend sein. Belegt ist auch die Wirkung von Antifibrinolytika oder konjugierten Östrogenen. Es stehen auch hier mit Desmopressin und den zugelassenen FVIII-vWF-Konzentraten 2 therapeutische Optionen zur Verfügung.

Bei kardiovaskulären Erkrankungen mit relevanten Störungen der primären Hämostase bietet Desmopressin bessere Aussichten auf Erfolg als FVIII-vWF-Präparate. Falls Desmopressin zur Blutstillung nicht ausreicht oder kontraindiziert ist, sollten FVIII-vWF-Präparate in einer Dosierung von 30–50 E/kgKG infundiert werden.

Sowohl FVIII-vWF-Konzentrate als auch Desmospressin wirken initial blutstillend bei myeloproliferativen Erkrankungen. Die Korrektur ist jedoch von deutlich kürzerer Dauer als bei der angeborenen vWE. Außerdem kann die Normalisierung des vWF thromboembolische Komplikationen zur Folge haben. Daher ist in seltenen Fällen beim Auftreten gravierender Blutungskomplikationen die Zytoreduktion indiziert. Nach Normalisierung der Thrombozytenzahl verschwindet die hämorrhagische Diathese.

Bei Patienten mit lymphoproliferativen Erkrankungen und monoklonaler Gammopathie sind der schlechte Anstieg und die erheblich verkürzte Halbwertzeit nach Infusion von FVIII-vWF-Konzentraten und nach Desmopressin belegt (Michiels et al. 2001). Erhöhte Dosen FVIII-vWF-Konzentrat können erfolgreich eingesetzt werden (Thiede et al. 2008). Bei Nachweis von monoklonalem IgG ist die hoch dosierte Anwendung von Immunglobulinen der Klasse IgG meist erfolgreich. Beim Typ IgM einer monoklonalen Gammopathie ist die Immunadsorption eine mögliche Therapiealternative. Bei schweren und anderweitig nicht beherrschbaren Blutungen ist die Gabe von rFVIIa eine Therapiealternative.

Patienten mit Wilms-Tumor, Karzinomen und soliden Tumoren zeigen überwiegend nur milde Symptome, die mit DDAVP meist problemlos beherrschbar sind. Eine Valproat-induzierte evWE kann ebenfalls durch die DDAVP-Gabe erfolgreich behandelt werden.

## Literatur


Budde U, Schäfer G, Müller N, Egli H, Dent J, Ruggeri ZM, Zimmerman TS (1984) Acquired von Willebrand's disease in the myeloproliferative syndrome. Blood 64: 981–985

Budde U, Scharf RE, Franke P, Hartmann-Budde K, Dent J, Ruggeri ZM (1993) Elevated platelet count as a cause of abnormal von Willebrand factor multimer distribution in plasma. Blood 82: 749–1757

Budde U, Schneppenheim R, Eikenboom J et al. (2008) Detailed von Willebrand Factor Multimer Analysis in Patients with von Willebrand Disease in the European Study, Molecular and Clinical Markers for the Diagnosis and Management of Type 1 von Willebrand Disease (MCMDM-1VWD). J Thromb Haemost 6: 762 – 771

Castaman G, Rodeghiero F (1996) Desmopressin and type IIB von Willebrand disease. Hemophilia 2: 73–76

Castaman G, Federici AB, Rodeghiero F, Mannucci PM (2003) Von Willebrand disease in the year 2003: Towards the complete identification of gene defects for correct diagnosis and treatment. Haematologica 88: 94–108

Castaman G, Lethagen S, Federici AB et al. (2008) Response of desmopressin influenced by the genotype and phenotype in type 1 von Willebrand disease: results from the European study MCMDM-1VWD. Blood 111: 3531–3539

Coppes MJ, Zandvoort SWH, Sparling CR, Poon AO, Weitzman S, Blanchette VS (1992) Acquired von Willebrand disease in Wilm's tumor paients. J Clin Oncol 10: 422–427

Dalton RG, Dewar MS, Savidge GF, Kernoff PBA, Matthews KB, Greaves M, Preston FE (1987) Hypothyroidism as a cause of acquired von Willebrand's disease. Lancet 8540: 1007–1009

Federici AB, Rand JH, Bucciarelli P, Budde U, van Genderen PJJ, Mohri H, Meyer D, Rodeghiero F, Sadler E (2000) Acquired von Willebrand syndrome: Data from an international registry. Thromb Haemost 84: 345–349

Federici AB, Mazurier C, Berntorp E, Lee CA, Scharrer I, Goudemand J, Lethagen S, Nitu I, Ludwig G, Hilbert L, Mannucci PM (2004) Biologic response to desmopressin in patients with severe type 1 and type 2 von Willebrand disease: Results of a multicenter European study. Blood 103: 2032–2038
Geisen U, Heilmann C, Beyersdorf F, Bonk C, Berchtold-Herz M, Schlensak C, Zieger B (2008) Non-surgical bleeding in patients with ventricular assist devices could be explained by acquired von willebrand disease. Eur J Cardiothorac Surg Feb 16 (Epub ahead of print)
Gill JC, Wilson AD, Endres-Brooks J, Montgomery RR (1986) Loss of the largest von Willebrand factor multimers from plasma of patients with congenital cardiac defects. Blood 67: 758–761
Goodeve A, Eikenboom J, Castaman G et al (2007) Phenotype and genotype of a cohort of families historically diagnosed with type 1 von Willebrand disease in the European study, molecular and clinical markers for the diagnosis and management of type 1 von Willebrand disease (MCMDM-1VWD). Blood 109: 112–21
Heyde EC (1958) Gastrointestinal bleeding in aortic stenosis. N Engl J Med 259: 196–201
Lee CA, Hubbard A, Sabin CA et al. (2009) A Scientific standardization committee communication. Diagnostic repertoire for laboratory diagnosis of von Willebrand disease: Results of a blind study in 32 centres wordwide. J Thromb Haemost [submitted]
Mannucci PM, Ruggeri ZM, Pareti FI, Capitanio A (1977) D.D.A.V.P. in haemophilia. Lancet ii:1171–1172
Mannucci PM. (1997) Desmopressin (DDAVP) in the treatment of bleeding disorders. The first 20 years. Blood 90: 2515–2521
Meyer D, Fressinaud E, Hilbert L, Ribba A, Lavergne JM, Mazurier C (2001) Type 2 von Willebrand disease causing defective von Willebrand factor-dependent platelet function. Bailliere's Clinical Haematology 14: 349–364
Michiels JJ, Budde U, van Genderen PJJ, van der Planken M, van Vliet HHDM, Schroyens W, Berneman Z (2001) Acquired von Willebrand Syndromes: Clinical features, etiology, pathophysiology, classification and management. Best Pract Clin Haematol 14: 401–436
Nichols WL, Hultin MB, James AH et al. (2008) Von willebrand disease (VWD): evidence-based diagnosis and management guidelines, the National Heart, Lung, and blood Institute (NHLBI) Expert Panel report (USA). Haemophilia 14: 171–232
Rodeghiero F, Castaman GC, Dini E (1987) Epidemiological investigation of the prevalence of von Willebrand's disease. Blood 69: 454–9
Rodeghiero F, Castaman G (2001) Congenital von Willebrand disease type I: definition, phenotypes, clinical and laboratory assesment. Bailliere´s Clinical Haematology 14: 321–335
Rugggeri ZM (1987) Classification of von Willebrand disease. In: Verstraete M, Vermylen J, Lijnen R, Arnout J. Leuven (eds) Thrombosis and Haemostasis. Leuven: Leuven University Press, pp 419–445
Ruggeri ZM (2001) Structure of von Willebrand factor and its function in platelet adhesion and thrombus formation. Bailliere's Clinical Haematology 14: 257–278
Sadler EJ (1994) A revised classification of von Willebrand disease. Thromb Haemost 71: 520–525
Sadler JE, Budde U, Eikenboom JCJ et al.; Working Party on von Willebrand Disease Classification (2006) Update on the pathophysiology and classification of von Willebrand disease: a report of the Subcommittee on von Willebrand Factor. J Thromb Haemost 4: 2103–2114
Sadler JE, Rodeghiero F (2005) Provisional criteria for the diagnosis of VWD type 1: on behalf of the SSC Subcommittee on von willebrand factor. J Thromb Haemost 3: 775–777
Schneppenheim R, Budde U, Obser T et al. (2001) Expression and characterization of von Willebrand dimerization defects in different types of von Willebrand disease. Blood 97: 2059–2066
Shim K, Anderson PJ, Tuley EA, Wiswall E, Sadler E (2008) Platelet-VWF complexes are preferred substrates of ADAMTS 13under fluid shear stress. Blood 111: 651–657
Simone JV, Cornet JA, Abildgaard CF (1968) Acquired von Willebrand's syndrome in systemic lupus erythematodes. Blood 31: 806–811
Thiede A, Priesack J, Werwitzke S, Bohlmann K, Oortwijn B, Lenting P, Eisert R, Ganser A, Budde U (2008) Diagnostic workup of patients with acquired von Willebrand syndrome: a retrospective single-centre cohort study. J Thromb Haemost Jan 17 [Epub ahead of print]
Tosetto A, Rodeghiero F, Castaman G et al. (2006) A quantitative analysis of bleeding symptoms in type 1 von Willebrand disease: results from a multicenter European study (MCMDM-1 VWD). J Thromb Haemost 4: 766–73
Tosetto A, Castaman G, Rodeghiero F (2008) Evidence-based diagnosis of type 1 von Willebrand disease: a Bayes theorem approach. Blood 111: 3998–4003
Veyradier A, Jenkins CSP, Fressinaud E, Meyer D (2000) Acquired von Willebrand syndrome: From pathophysiology to management. Thromb Haemost 84: 175–182
Vincentelli A, Susen S, Le Touneau T, Six I, Fabre O, Juthier F, Bauters A, Decoene C, Goudemand J, Prat A, Jude B (2003) Acquired von Willebrand syndrome in aortic stenosis. N Engl J Med 349: 343–349
von Willebrand EA (1926) Hereditär pseudohemofili. Finska Läk Sällsk Handl 68: 87–112

## 30.7 Hyperfibrinolyse

*B. Pötzsch*



## Einleitung

Die Hyperfibrinolyse ist durch einen überschießenden Fibrinabbau charakterisiert. Dadurch werden zur Blutstillung benötigte Blutgerinnsel frühzeitig aufgelöst. Die Folge ist eine Blutungsneigung. Ausgelöst werden kann die Hyperfibrinolyse durch eine Regulationsstörung des Fibrinolysesystems selbst. Dieser primären Hyperfibrinolyse wird eine sekundäre Form gegenübergestellt, die durch eine verstärkte Gerinnungsaktivierung ausgelöst wird.

Laboranalytisch ist eine Hyperfibrinolyse schwer zu diagnostizieren, da kein Testverfahren zur Verfügung steht, das mit ausreichender Sensitivität und Spezifität den Nachweis einer Hyperfibrinolyse ermöglicht. Indikatoren einer Hyperfibrinolyse sind eine spindelförmige Amplitude im Thrombelastogramm, verminderte Fibrinogenwerte und erhöhte D-Dimer-Werte. Beim klinischen Verdacht einer Hyperfibrinolyse wird eine Therapie mit den synthetischen Antifibrinolytika Tranexamsäure oder ε-Aminocapronsäure eingeleitet.



### Pathophysiologie

Das Fibrinolysesystem ist ein fibrinabbauendes Multienzymsystem, dessen Aktivierung und Regulation eng mit dem plasmatischen Gerinnungssystem verknüpft ist. Das Fibrinolysesystem wird durch Freisetzung der Plasminogenaktivatoren t-PA (»tissue-type plasminogen activator«) und u-PA (»urokinase-type plasminogen activator«) aktiviert, indem diese Plasminogen durch proteolytische Spaltung in das aktive Enzym Plasmin überführen. In der t-PA vermittelten Plasminogenaktivierung wirkt Fibrin als geschwindigkeitsbestimmender Kofaktor, die u-PA-vermittelte Plasminogenaktivierung ist Kofaktor unabhängig. Die Aktivität der Plasminogenaktivatoren wird durch Komplexbildung mit den Plasminogenaktivatorinhibitoren und durch deren kurze Halbwertszeit reguliert. Die Plasminaktivität wird durch das Serpin $\alpha_2$-Antiplasmin kontrolliert.

Im Fall einer Hyperfibrinolyse ist die Plasminaktivität so gesteigert, dass es zu einem Ungleichgewicht zwischen der Fibrinbildungs- und der Fibrinolyserate kommt. Der daraus resultierende verstärkte Fibrinabbau verhindert die Bildung von stabilen Fibringerinnseln und kann bereits gebildete Gerinnsel auflösen. Bei sehr hohen Plasminkonzentrationen kommt es zusätzlich zu einer Fibrinogenolyse, sodass nicht nur Fibrin verstärkt abgebaut wird, sondern auch durch den Fibrinogenmangel das Substrat für die Fibrinbildung fehlt.

Darüber hinaus werden auch andere Proteine durch Plasmin proteolysiert. Dazu gehören die thrombozytären Glykoproteinrezeptoren GP Ib-IX und GP IIb-IIIa sowie Faktor XIII (Adelman et al. 1985). Dementsprechend kann eine Plasminämie die Interaktion der Thrombozyten mit Von-Willebrand-Faktor und Fibrin stören und dadurch eine Thrombozytenfunktionsstörung induzieren. Durch die Funktionsminderung von Faktor XIII wird die Quervernetzung des Fibringerinnsels und damit dessen Stabilität beeinträchtigt.

Entsprechend den Ursachen der Hyperfibrinolyse wird in der Literatur zwischen einer primären und sekundären Form der Hyperfibrinolyse unterschieden. Bei der primären Form besteht eine Dysfunktion einzelner Fibrinolysekomponenten, die zu einer gesteigerten Fibrinolyseaktivität führt. Bei der sekundären Form handelt es sich um eine reaktive Form. Durch eine vorausgegangene meist systemische Aktivierung des plasmatischen Gerinnungssystems kommte es zu einer Fibrinolyseaktiverung.

Beim selten auftretenden hereditären $\alpha_2$-Antiplasminmangel wird die Hyperfibrinolyse durch die eingeschränkte Neutralisation des Plasmins ausgelöst. Eine weitere Ursache für einen hyperfibrinolytischen Phänotyp ist der ebenfalls sehr selten auftretende hereditäre PAI-Mangel (PAI=Plasminogenaktivatorinhibitor; Agren et al. 2007). Wesentlich häufiger wird eine primäre Hyperfibrinolyse durch eine gesteigerte t-PA-Freisetzung aus t-PA-reichen Organen wie der Prostata oder dem Uterus induziert. Beim Prostatakarzinom ist die Hyperfibrinolyse ein typisches paraneoplastisches Symptom. Auch bei der Promyelozytenleukämie ist die Hyperfibrinolyse ein paraneoplastisches Symptom. Auslösende Ursachen der Hyperfibrinolyse sind hier wahrscheinlich Tumorproteasen, die zu einer verstärkten Plasminbildung führen (Van Slyck et al. 1989). Die insbesondere nach längeren Reanimationsphasen zu beobachtende Hyperfibrinolyse ist auf eine verstärkte Freisetzung von t-PA aus dem Gefäßendothel zurückzuführen.

Im Unterschied zur primären Hyperfibrinolyse geht der sekundären Form zunächst eine überschießende Fibrinbildung meist als Folge einer systemischen Gerinnungsaktivierung voraus. Die Fibrinbildung stimuliert die t-PA-Freisetzung und verstärkt die t-PA-abhängige Plasminbildung. Typisches Beispiel ist die sekundäre Hyperfibrinolyse im Rahmen einer DIC (disseminierte intravasale Gerinnung). Eine in unseren Breiten seltene Form ist die durch Schlangengifte ausgelöste Hyperfibrinolyse. Thrombinähnliche Enzyme aus den Schlangengiften induzieren die zur Hyperfibrinolyse führende Fibrinämie (Hunt u. Segal 1999).

Die bei schweren Leberfunktionsstörungen auftretende Hyperfibrinolyse setzt sich aus Komponenten einer primären und sekundären Hyperfibrinolyse zusammen (Leebeek et al. 1991). Zu den primären Ursachen gehört die verminderte Synthese von $\alpha_2$-Antiplasmin, die vermehrte endotheliale Freisetzung von t-PA bei einer gleichzeitig eingeschränkten hepatischen Klärung von Plasmin und t-PA sowie die Rückdiffusion von t-PA aus Aszites. Zu den sekundären Ursachen gehört die latent verstärkte Gerinnungsaktivierung mit der Bildung von löslichem Fibrin.

Eine weitere Sonderform ist die iatrogene Hyperfibrinolyse, die durch den therapeutischen Einsatz von Fibrinolytika ausgelöst wird und therapeutisch erwünscht ist. Demgegenüber ist die fibrinolytische Wirkung von Desamino-8-D-Argininovasopressin ein Nebeneffekt, der durch eine Stimulation der t-PA-Freisetzung induziert wird und therapeutisch nicht erwünscht ist.

## Klinik

**! Das Symptom der Hyperfibrinolyse ist die Blutungsneigung. Häufig kommt es nach einer zunächst normal verlaufenden Blutstillung nach einem kurzen Intervall zu einem Wiederauftreten der Blutung.**

Wie bei anderen hämorrhagischen Diathesen gehören Epistaxis, Gingivablutungen, Hämatomneigung und verstärkte Menstruationsblutungen zum klinischen Bild. Muskelblutungen oder intraartikuläre Blutungen sind extrem selten.

Primär erworbene Hyperfibrinolysen werden häufig erst im Rahmen von operativen Eingriffen symptomatisch, wie z. B. einer Prostatektomie, und können dann zu verstärkten Blutungen führen. Das klinische Bild der sekundären Hyperfibrinolyse ist neben der Blutungsneigung durch die Grunderkrankung geprägt. Eine eher seltene aber mit einer massiven Hyperfibrinolyse einhergehende Erkrankung ist das Kasabach-Merritt-Syndrom. Hier kommt es durch die chronische, unterschwellige Gerinnungsaktivierung zu einer Hyperfibrinolyse, die zur Blutung führt.

## Labordiagnostik

Ein einziges Testverfahren, wie z. B. ein Globaltest, das geeignet wäre, eine Hyperfibrinolyse nachzuweisen und deren Schweregrad zu definieren, existiert nicht (Prisco et al. 1998). Zurzeit werden mehrere Testverfahren eingesetzt, die in Zusammenhang mit der klinischen Konstellation das Vorliegen einer Hyperfibrinolyse als wahrscheinlich oder eher unwahrscheinlich erscheinen lassen.

**Thrombelastogramm.** Mit diesem Vollbluttestverfahren kann die Stabilität des gebildeten Gerinnsels zeitabhängig gemessen werden. Besteht eine Hyperfibrinolyse wird der Fibrinanteil des Gerinnsels proteolytisch attackiert. In Abhängigkeit vom Ausmaß der Hyperfibrinolyse kommt es zu einer Abnahme der Gerinnselfestigkeit. Im Thrombelastogramm zeigt sich dies in einer Abnahme der Amplitude. Es resultiert ein spindelförmiges Elastogramm (Abb. 30.6), das typisch für eine Hyperfibrinolyse ist. Ein Nachteil besteht in der geringen Sensitivität der Methode, die erst bei ausgeprägter Hyperfibrinolyse die beschriebenen Veränderungen aufweist.

Eine Modifikation stellt die Bestimmung des Thrombelastogramms nach Induktion durch eine geringe Konzentration an Tissue Factor in An- und Abwesenheit eines Plasmininhibitors, wie z. B. Aprotinin dar (▶ Kap. 58). Aus der Differenz zwischen beiden Ansätzen, die als sogenannter Hyperfibrinolysequotient ausgedrückt wird, kann das Vorliegen einer Hyperfibrinolyse abgeleitet werden. Diese Methode kann eine Hyperfibrinolyse sensitiver erfassen als das native Thrombelastogramm. Systematische Untersuchungen über den Stellenwert dieses diagnostischen Ansatzes im klinischen Alltag liegen bisher noch nicht vor.

**Fibrinogenbestimmung.** Im Rahmen einer schweren Hyperfibrinolyse kann es zu einer Fibrinogenolyse kommen. Deswegen ist die Fibrinogenbestimmung eine Komponente

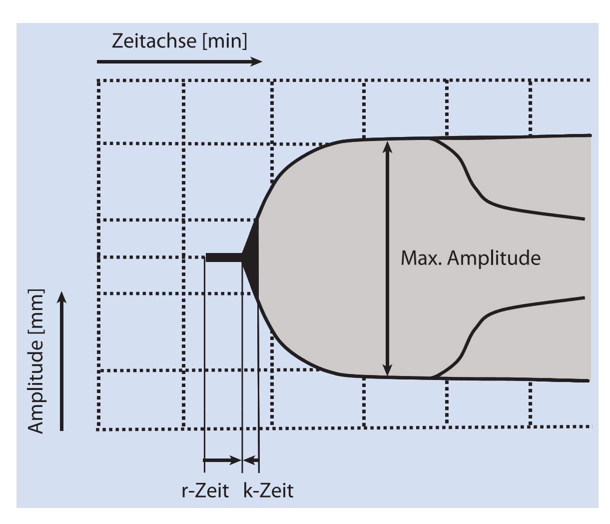



**Abb. 30.6.** Nachweis einer Hyperfibrinolyse im Thrombelastogramm

der Hyperfibrinolysediagnostik und geeignet, den Schweregrad einer Hyperfibrinolyse einzustufen.

Je stärker der Fibrinogenplasmaspiegel erniedrigt ist, desto höher ist das Blutungsrisiko des Patienten. Dies gilt auch, wenn die Fibrinogenplasmaspiegel durch eine zusätzlich bestehende Synthesestörung erniedrigt sind.

**D-Dimer.** Das Fibrinfragment D-Dimer ist ein Reaktionsprodukt der plasmininduzierten Proteolyse von quervernetztem Fibrin. Erhöhte D-Dimer-Konzentrationen zeigen deswegen eine verstärkte Fibrinbildung mit nachfolgendem fibrinolytischen Abbau an. Erhöhte D-Dimer-Werte können den Verdacht auf das Vorliegen einer Hyperfibrinolyseblutung untermauern, sind alleine aber nicht beweisend für das Vorliegen einer klinisch relevanten Hyperfibrinolyse. In den meisten Fällen ist die D-Dimer-Erhöhung Zeichen einer regulativ gesteigerten Fibrinolyse, wie z. B. nach einer Thrombose.



Im Referenzbereich liegende D-Dimer-Konzentrationen machen eine akute Hyperfibrinolyse unwahrscheinlich. Nur in den sehr seltenen Fällen einer schwersten Hyperfibrinolyse kann es durch Fibrinogenmangel und einer stark verminderten Faktor-XIII-Aktivität zu einem fehlenden D-Dimer-Anstieg kommen.

**Thrombin- und Reptilasezeit.** Durch die hohen Plasmakonzentrationen an Fibrinspaltprodukten, wie sie als Folge einer Hyperfibrinolyse auftreten können, wird eine Fibrinpolymerisationsstörung induziert. Laboranalyisch kann diese Fibrinpolymerisationsstörung durch Bestimmung der Thrombin- und Reptilasezeit nachgewiesen werden, da beide Gerinnungszeiten durch Fibrinogenspaltprodukte verlängert werden. Eine gleichzeitige Verlängerung der Thrombin- und Reptilasezeit ist hinweisend auf eine Hyperfibrinolyse, sofern die Fibrinogenkonzentration nicht unterhalb von 100 mg/dl liegt.

**t-PA und PAI-Plasmakonzentrationen.** Erhöhte t-PA-Konzentrationen können zu einer Hyperfibrinolyse führen. Umgekehrt ist das Auftreten einer Hyperfibrinolyse bei erhöhten t-PA-Plasmaspiegeln nicht obligat, weil eine effektive Regulation des gebildeten Plasmins durch $\alpha_2$-Antiplasmin erfolgen kann. Daher ist die Spezifität der t-PA-Bestimmung zur Erkennung einer Hyperfibrinolyse eingeschränkt. Zusätzlich hat die schwierige Präanalytik dazu geführt, dass die t-PA-Bestimmung in der Routinediagnostik der Hyperfibrinolyse nicht eingesetzt wird.

Erniedrigte PAI-Plasmakonzentrationen können über eine verminderte t-PA-Inaktivierung zu einer Hyperfibrinolyse führen. Eine klinisch relevante Hyperfibrinolyse wird über diesen Mechanismus, wenn überhaupt, nur sehr selten ausgelöst. Ähnlich wie beim t-PA hat sich die PAI-Bestimmung nicht in der Routinediagnostik der Hyperfibrinolyse durchgesetzt.

**Plasminogen und α2-Antiplasmin.** Mit der Bestimmung der Plasminogenaktivität wird die Konzentration an aktivierbarem Plasminogen im Plasma gemessen. Bei einer verstärkten Plasminbildung kann es zu einer Abnahme der Plasminogenkonzentration kommen. Deswegen können bei Vorliegen einer Hyperfibrinolyse verminderte Plasminogenwerte gemessen werden. Da die Plasminogenkonzentrationen relativ hoch sind, ist eine Abnahme der Plasminogenwerte jedoch keine zwingende Voraussetzung für das Vorliegen einer Hyperfibrinolyse.

Etwas empfindlicher als die Plasminogenkonzentration reagiert die Konzentration an $\alpha_2$-Antiplasmin. Im Fall einer Hyperfibrinolyse kommt es durch die verstärkte Plasmingenerierung zu einem Verbrauch von $\alpha_2$-Antiplasmin. Im Referenzbereich liegende Konzentrationen an $\alpha_2$-Antiplasmin schließen eine Hyperfibrinolyse nicht aus, machen eine schwere Hyperfibrinolyse jedoch eher unwahrscheinlich.

**Plasminogen-α2-Antiplasmin-Komplexe.** Erhöhte Plasmaspiegel des PAP-Komplexes belegen eine verstärkte Plasmingenerierung. Die verstärkte Plasminbildung ist zwar eine Grundvoraussetzung zur Entwicklung einer Hyperfibrinolyse, führt aber nur zur klinisch relevanten Hyperfibrinolyse, wenn das Plasmin nicht in ausreichendem Maß durch $\alpha_2$-Antiplasmin inaktiviert wird. Deswegen belegen erhöhte PAP-Komplexe nur dann eine Hyperfibrinolyse, wenn auch gleichzeitig eine Verminderung der $\alpha_2$-Antiplasminaktivität nachgewiesen wird. In der klinischen Routine hat die Bestimmung der PAP-Komplexe bisher keine Bedeutung erlangt, weil ihre Bestimmung zu zeitaufwendig ist und damit die Ergebnisse in einem dynamischen Akutgeschehen nicht mehr von Bedeutung sind.

### Diagnostik

Die verschiedenen zur Hyperfibrinolyse eingesetzten Testverfahren sind in Tab. 30.23 zusammengefasst und hinsichtlich ihrer diagnostischen Aussagekraft bewertet.

> **! Mit keinem der einzelnen Testverfahren kann eine Hyperfibrinolyse mit ausreichender Sensitivität und Spezifität erfasst werden.**

Zur Routinediagnostik wird deswegen eine Kombination der oben aufgeführten Analyseverfahren mit Ausnahme der t-PA-, PAI- und PAP-Bestimmung empfohlen. Diese 3 Parameter sind wissenschaftlichen Untersuchungen vorbehalten.

### Therapie

Therapeutisches Ziel ist es, die hyperfibrinolytische Stoffwechsellage zu beenden und, wenn möglich, die zur Hyperfibrinolyse führenden Mechanismen zu unterbrechen. Eine direkte Beeinflussung der Hyperfibrinolyse ist durch die Gabe von Antifibrinolytika möglich.

**Tab. 30.23.** Laboranalytische Konstellationen bei hyperfibrinolytischer Stoffwechsellage

| Parameter | Resultat | Hyperfibrinolyse | Bewertung |
|---|---|---|---|
| TEG | Spindelförmig | Gesichert | Eingeschränkte Sensitivität |
| ApTEG | Pathologisch | Gesichert | Eingeschränkte Sensitivität |
| D-Dimer | Erhöht | Möglich | Geringe Spezifität |
| Thrombinzeit und Reptilasezeit | Verlängert | Wahrscheinlich | Eingeschränkte Sensitivität |
| Fibrinogen | Erniedrigt | Möglich | Differenzialdiagnostisch wichtig |
| t-PA | Erhöht | Wahrscheinlich | Wissenschaft |
| PAI | Normal bis erniedrigt | Möglich | Wissenschaft |
| Plasminogen | Normal bis erniedrigt | Möglich | Geringe Sensitivität |
| $\alpha_2$-Antiplasmin | Erniedrigt | Wahrscheinlich | Geringe Sensitivität |
| PAP | Erhöht | Möglich | Wissenschaft |

*TEG* Thrombelastogramm, *ApTEG* Aprotininthrombelastogramm; *t-PA* »tissue-type« Plasminogenaktivator; *PAI* Plasminogenaktivatorinhibitor; *PAP* Plasmin-$\alpha_2$-Antiplasmin-Komplexe

**! Für den therapeutischen Einsatz verfügbar sind die synthetischen Lysinanaloga Tranexamsäure (TXA) und ε-Aminocapronsäure (EACA). Beide Substanzen hemmen die Plasmingenerierung durch Bindung an die Lysinbindungsstellen im Plasminogenmolekül (▶ Kap. 50.2).**

Verglichen mit EACA bindet TXA mit höherer Affinität an Plasminogen. Daraus resultiert eine etwa 10-fach stärkere antifibrinolytische Wirkung (Mannucci 1998). Das bereits gebildete Plasmin wird durch beide Substanzen in seiner Aktivität nicht beeinflusst, sodass eine Plasminämie weder durch TXA noch durch EACA effektiv behandelt werden kann. Der direkte Plasmininhibitor Aprotinin, der eine Behandlung der Plasminämie ermöglichte, steht für den therapeutischen Einsatz nicht mehr zur Verfügung.

Zur Behandlung einer schweren Hyperfibrinolyseblutung wird die intravenöse Bolusgabe von TXA in einer Dosierung von 50–100 mg/kgKG, gefolgt von einer kontinuierlichen intravenösen Gabe von 10–20 mg/kgKG pro Stunde empfohlen (Prisco et al. 1998). Besteht zusätzlich ein Fibrinogenmangel (<100 mg/dl), wird die Gabe von Fibrinogen in einer initialen Dosierung von 3 g und die Gabe von etwa 4 Einheiten gefrorenem Frischplasma empfohlen. Gefrorenes Frischplasma enthält den Plasmininhibitor $\alpha_2$-Antiplasmin und kann deswegen die Plasminneutralisation unterstützen. Im SD-Verfahren hergestelltes lyophilisiertes Plasma enthält im Unterschied zu gefrorenem Frischplasma geringere Konzentrationen an $\alpha_2$-Antiplasmin und gilt deswegen nicht als Plasma der ersten Wahl. Die TXA-Gabe sollte bis zum Sistieren der Blutung fortgesetzt werden. Danach ist angepasst an die klinische Situation eine Dosisreduktion oder ein Absetzen des TXA möglich.

Zur Behandlung einer leichten Hyperfibrinolyseblutung und zur Blutungsprophylaxe wird TXA in einer Dosierung von 3-mal 1 g oral verabreicht. Vor operativen Eingriffen wird ein Beginn der Therapie 24 h vor dem geplanten Eingriff empfohlen. Die Behandlungsdauer ist vom klinischen Verlauf abhängig. Sofern klinisch indiziert, kann TXA auch über einen längerfristigen Zeitraum verabreicht werden (▶ Kap. 50.2). Zur blutsparenden Begleittherapie wird TXA in der Kardiochirurgie als Aprotininersatz eingesetzt (▶ Kap. 43).

## Literatur


Adelman B, Michelson AD, Loscalzo J et al. (1985) Plasmin effect on platelet-glycoprotein-Ib-von Willebrand factor interactions. Blood 65: 32–40

Agren A, Wiman B, Schulman S (2007) Laboratory evidence of hyperfibrinolysis in association with low plasminogen activator inhibitor type 1 activity. Blood Coagul Fibrinolysis 18: 657–660

Hunt BJ, Segal H (1999) Hyperfibrinolysis. J Clin Pathol 49: 958

Leebeek FWG, Kluft C, Knot EAR et al. (1991) A shift in balance between profibrinolytic and antifibrinolytic factors causes enhanced fibrinolysis in cirrhosis. Gastroenterology 101: 1382–1390

Mannucci PM (1998) Hemostatic drugs. N Engl J Med 339: 245–253

Molenaar IQ, Warnaar N, Groen H et al. (2007) Efficacy and safety of antifibrinolytic drugs in liver transplantation: a systematic review and meta-analysis. Am J Transplant 7: 185–194

Prisco D, Conti AA, Giurlan L, Falciani M (1998) Clinical application fo fibrinolysis laboratory tests: a review. Ann Ital Med Int 13: 81–87

Van Slyck EJ, Raman SB, Janakiraman N (1989) Primary fibrinolysis in acute monocytic leukemia. Henry Ford Hosp Med J 37: 33–36

## 30.8 Hereditäre hämorrhagische Teleangiektasie

*M. Schindewolf, E. Lindhoff-Last*



Die hereditäre hämorrhagische Teleangiektasie ist eine autosomal dominant vererbte Bindegewebserkrankung, die entweder durch eine Genmutation im Endoglin-Gen oder im ALK1-Gen (ALK1 = »activin type-II-like receptor kinase I«) verursacht wird. Durch die Ausbildung von Angiodysplasien kommt es zu arteriovenösen Shunts in der Haut und verschiedenen Organen.

Die klinische Symptomatik ist variabel und reicht von Teleangiektasien bis hin zu lebensbedrohlichen viszeralen Blutungskomplikationen. Eine spezifische Therapie ist nicht möglich, Blutungskomplikationen werden lokal und symptomatisch durch unspezifisch wirkende Hämostyptika behandelt.



### Definition

Bei der hereditären hämorrhagischen Teleangiektasie (HHT), auch Rendu-Osler-Weber-Krankheit genannt, handelt es sich um eine autosomal-dominant vererbte Bindegewebserkrankung der Gefäße mit variabler, lokalisierter Ausbildung von angiodysplastischen Läsionen (Teleangiektasien und arteriovenöse Malformationen), die sämtliche Organe betreffen können. Es werden 2 Formen unterschieden, eine HHT 1 mit Genmutation im Endoglin-Gen sowie eine HHT 2 mit Genmutation im ALK1-Gen.

Der ursprüngliche Name Rendu-Osler-Weber-Krankheit geht auf die gleichnamigen Erstbeschreiber zurück, die Ende des 19. und Anfang des 20. Jahrhunderts erstmals nacheinander von Fällen hereditärer Teleangiektasien und rezidivierenden Blutungskomplikationen berichteten (Rendu 1896; Osler 1901; Weber 1907). Hanes führte 1909 schließlich die heute gebräuchliche Bezeichnung »Hereditäre hämorrhagische Teleangiektasie« ein (Hanes 1909).

### Inzidenz und Epidemiologie

Die aktuelle Inzidenz der HHT liegt zwischen 1:5.000 bis 1:10.000, sie kann regional jedoch deutlich höher liegen (1:1.300; Guttmacher et al. 1995). Geschlechtsspezifische Unterschiede konnten bisher nicht dokumentiert werden. Die Penetranz der klinischen Symptome liegt bei 97–100% und ist altersabhängig.

**! Bis zum Alter von 40 Jahren hat sich bei >90% der Patienten mindestens ein klinisches Zeichen der Erkrankung entwickelt (Porteous et al. 1992).**

### Pathophysiologie

Die charakteristischen Teleangiektasien entwickeln sich schrittweise über fokale Dilatationen der postkapillären Venolen. Im weiteren kommt es unter Einbeziehung des Kapillarbetts zu einer Rarefizierung der Kapillaren und im Fall einer weiteren Diameterzunahme und Elongation der Venolen zu direkten Kurzschlussverbindungen mit den präkapillären Arteriolen, die sich in der vollständig ausgebildeten teleangiektatischen Läsion ebenfalls erweitern. Arteriovenöse Malformationen (AVM) bestehen ebenfalls aus direkten arteriovenösen Shunts, die aber deutlich größer sind (Porteous et al. 1992).

Auf molekularer Ebene konnte zumindest für die HHT 1 gezeigt werden, dass Endoglin (s. unten) für die Funktion der endothelialen NO-Synthase (eNOS) wichtig ist. Die bei der HHT vorliegende Haploinsuffizienz führt dann über eine gestörte eNOS-Funktion zu einer verminderten NO- und einer erhöhten $O_2^-$-Produktion, was eine lokale vasomotorische Dysfunktion mit Verminderung der Vasokonstriktion der kleinen präkapillären Widerstandsgefäße bewirkt. Hierdurch kommt es über eine gesteigerte kapilläre Perfusion zu einer Dilatation der postkapillären Venolen (Toporsian et al. 2006). Ebenso scheint Endoglin die Expression von Zyklooxygenase-2 invers zu regulieren. So kommt es bei Haploinsuffizienz zur Erhöhung der COX-2 vermittelten Produktionen von vasodilatierenden Prostaglandinen (Jerkic et al. 2006).

### Klinik

Die Ausprägung der klinischen Symptome variiert interindividuell sehr stark, selbst zwischen den einzelnen Mitgliedern einer Familie mit demselben Gendefekt. Die Variationsbreite reicht von lediglich kosmetisch auffälligen Teleangiektasien bis hin zu lebensbedrohlichen viszeralen Blutungskomplikationen. Eine Beeinträchtigung der Thrombozytenfunktion oder der plasmatischen Gerinnung wird in der Regel nicht gefunden (Sadick et al. 2006).

### Epistaxis

> **Rezidivierende, spontane Epistaxis ist mit einer Inzidenz von 96% aller Patienten mit HHT das häufigste und in 90% aller Fälle auch das zuerst auftretende Symptom dieser Erkrankung (Römer et al. 1992).**

In der Hälfte aller Fälle beginnt es bereits vor dem 20. Lebensjahr, wobei die Häufigkeit der Episoden von einmal jährlichen bis mehrmals täglichen Episoden reichen kann. Die Schwere sowie die Häufigkeit der Episoden nehmen in ca. zwei Dritteln der Fälle im Laufe der Jahre zu (Saddick et al. 2006).

### Mukokutane Beteiligung

Eine mukokutane Beteiligung findet man bei ca. 50–80% der HHT-Patienten (Sadick et al. 2006). Die v. a. nasofazial im Bereich der Haut und Schleimhäute (Lippen, Zunge, Mundhöhle, Gesicht, Konjunktiven), aber auch im Bereich des Integuments am Stamm sowie an den Akren gefundenen Teleangiektasien stellen in der Regel vielmehr ein kosmetisches Problem dar, tatsächliche Blutungskomplikationen sind sehr selten. Allerdings können sie, ebenso wie die rezidivierend auftretende Epistaxis, eine Quelle chronischen Blutverlustes darstellen.

Teleangiektasien manifestieren sich in der Regel zwischen der dritten und fünften Lebensdekade und damit später als die Epistaxis. Sie nehmen mit zunehmendem Alter weiter zu (Plauchu et al. 1989).

### Viszerale Beteiligung

Grundsätzlich können alle Organe beteiligt sein. Eine viszerale Beteiligung erlangt allerdings eine besondere klinische Bedeutung, wenn Lunge, Gehirn, Leber oder Gastrointestinaltrakt betroffen sind.

Im Gegensatz zu den mukokutanen Teleangiektasien manifestieren sich die im gesamten, jedoch häufiger im oberen Gastrointestinaltrakt auftretenden Teleangiektasien meist erst ab der vierten bis sechsten Lebensdekade (Reilly u. Nostrant 1984).

> **Teleangiektasien im Gastrointestinaltrakt können bei bis zu einem Drittel der HHT-Patienten zu mitunter schweren gastrointestinalen Blutungskomplikationen führen (Sabba et al. 2005).**

Die Ausbildung von größeren arteriovenösen Malformationen (AVM) oder Aneurysmen ist selten. In einigen Fällen wurde eine Koinzidenz der familiären juvenilen Polyposis (verursacht durch eine MADH4-Genmutation) mit der HHT berichtet (s. unten; Gallione et al. 2004).

Eine hepatische Beteiligung konnte bei bis zu 84% der HHT-Patienten nachgewiesen werden (Ianora et al. 2004; Sabba et al. 2007). Zwar ist sie in der Mehrzahl der Fälle asymptomatisch, durch Shunt-Bildung zwischen der A. hepatica und den Lebervenen kann es jedoch aufgrund des gesteigerten Herzzeitvolumens zu einem »high-output«-Herzversagen kommen. Auch sind Shunt-Verbindungen mit der V. portae möglich, die im Verlauf zu portaler Hypertension und ihren Komplikationen wie Ösophagusvarizen, Hämatemesis, Melaena, Aszites und Splenomegalie führen können.

Aufgrund der Shunt-bedingten chronischen Ischämie kann es weiterhin zu nodulären Leberstrukturveränderungen und Ausbildung einer Pseudozirrhose kommen. In dieser Konstellation oder bei Shunts zwischen der V. portae und den Lebervenen kann auch das Auftreten einer hepatischen Enzephalopathie beobachtet werden (Garcia-Tsao et al. 2000).

Weitere Komplikationen können eine ischämiebedingte anikterische Cholestase oder Cholangitis sein. Eine sehr seltene klinische Manifestation kann eine durch ein Steal-Phänomen verusachte Angina abdominalis sein. Schwere Fälle mit Leberversagen (insbesondere auch nach iatrogenen Komplikationen im Rahmen einer Embolisationstherapie) mit der Notwendigkeit zur Lebertransplantation wurden beschrieben (Whiting et al. 2000; Mukasa et al. 1998).

> **Auch eine ZNS-Beteiligung (Gehirn, Meningen, Rückenmark) ist möglich, mit Auftreten von Teleangiektasien, AVM, Aneurysmen oder kavernösen Angiomen und einer Prävalenz bis 23% (Fulbright et al. 1998).**

Die Angiodysplasien können mit Migräne-, Krampf- oder Schlaganfällen, Synkopen oder subarachnoidalen oder intrazerebralen Blutungskomplikationen symptomatisch werden (Sabba et al. 2005). Patienten mit zerebraler Beteiligung haben ein über 20-fach höheres Risiko, eine zerebrale Blutung zu erleiden (Easey et al. 2003). Bei bis zu zwei Dritteln der Patienten mit neurologischen Komplikationen liegt als Ursache jedoch eine pulmonale AVM vor (s. unten). In der Schwangerschaft sollte auf eine Periduralanästhesie aufgrund des Vorkommens von spinalen AVM in bis zu 2% der Fälle ohne vorherige Diagnostik nach Möglichkeit verzichtet werden (Shovlin et al. 1995).

Pulmonale AVM (von Teleangiektasien bis hin zu größeren AV-Fisteln mit aneurysmatischen Aussackungen) finden sich bei bis zu 75% der Patienten mit HHT. Sie sind bei HHT 1 häufiger als bei HHT 2 (Sabba et al. 2007). Sie zeigen eine Tendenz zur Größenzunahme im Laufe der Zeit und nur selten spontane Regressionen. Obwohl meist klinisch asymptomatisch, können sie doch gelegentlich durch verschiedene Symptome auffällig werden. Diese reichen von Dyspnoe, Zyanose, Blutungskomplikationen mit Hämoptysen und Hämatothorax, pulmonaler Hypertonie, Polyzythämie bis hin zu neurologischen Komplikationen.

Kleinere AVM mit einem Shuntvolumen von <25% sind meist asymptomatisch bzw. fallen insbesondere durch Belastungsdyspnoe auf. Durch paradoxe thrombotische oder bakterielle Embolien über Rechts-links-Shunts kann es zum Auftreten einer transitorischen ischämischen Attacke, eines apoplektischen Insults oder zu Hirnabszessen kommen, die zu schweren klinischen Verläufen führen.

Die Häufigkeit für das Auftreten eines Hirnabszesses bei einem HHT-Patienten im Laufe seines Lebens beträgt ca. 10% (Press u. Ramsey 1984). Bei operativen Eingriffen mit wahrscheinlicher transienter Bakteriämie ist daher unbedingt auf eine Endokarditisprophylaxe zu achten. Die Prävalenz zerebraler Komplikationen von Patienten mit pulmonalen arteriovenösen Malformationen liegt je nach Anzahl und Komplexizität der Malformationen zwischen 46–70% (Faughnan et al. 2000). Prädisponierend für Blutungskomplikationen sind insbesondere Zustände mit erhöhtem Herzzeitvolumen, z. B. in der Schwangerschaft, in der sich häufig eine Größenzunahme der AVM zeigt (Shovlin et al. 1995). Ein Screening vor und Verlaufskontrollen während der Schwangerschaft sind somit unerlässlich. Seltene andere Lokalisationen sind die Koronararterien (Hsi et al. 2003), Augengefäße (Knox u. Frazer 2003), der Urogenitaltrakt (Dahlgren et al. 2006; Ziani et al. 2000) und die Milz (Lande et al. 1976).



### Genetische Aspekte

HHT 1 wird verursacht durch Mutationen im 15 Exons umfassenden Endoglin-Gen auf Chromosom 9q33-q34.1 (McAllister et al. 1994), während HHT 2 durch Mutationen auf einem 10 Exons umfassenden ALK1-Gen (»activin type-II-like receptor kinase I«) auf Chromosom 12q13 (Johnson et al. 1996) verursacht wird. Die gefundenen Mutationen sind familienspezifisch (Sensitivität bis 92,4%; Lenato et al. 2006). Bisher wurden für beide Defekte mehr als 120 verschiedene Mutationen gefunden (Abdalla u. Letarte 2006). Dies macht die genetische Diagnostik sehr aufwendig. Die Testsensitivität liegt zwischen 80–90%. Komplexere Defekte werden möglicherweise nicht erfasst, außerdem sind weitere Mutationen zu erwarten (Prigoda et al. 2006; Letteboer et al. 2005).

> **! Somit schließt eine negative Genanalyse das Vorliegen einer HHT nicht sicher aus.**

Für HHT 1 und HHT 2 konnten auch spontan aufgetretene De-novo-Mutationen nachgewiesen werden. Bis zu 20% der betroffenen Patienten haben eine negative Familienanamnese (Sadick et al. 2006). Ob die homozygoten Verlaufsformen beider Mutationen letal sind, kann zurzeit abschließend noch nicht sicher beurteilt werden (Lenato et al. 2006b).

ENG (Endoglin-Gen) kodiert für das transmembranöse Protein Endoglin (CD 105), das überwiegend auf Endothelzellen aller Gefäßabschnitte exprimiert wird und im TβRI-TβRII-Komplex als akzessorischer Korezeptor für »transforming growth factor β« 1 und 3 (TGF-β) fungiert (Cheifetz et al. 1992). ALK1 kodiert für ein transmembranöses Protein (»activin type-II-like receptor kinase I«=ACVRL1), das ebenfalls überwiegend auf Endothelzellen, insbesondere Arteriolen, exprimiert wird und einen TGF-β-Typ-I-Rezeptor (TβRI) darstellt, der über TGF-β-Typ-II-Rezeptoren (TβRII) aktiviert wird. Seine Funktion wird über seine Serin-Threonin-Kinaseaktivität über »receptor-regulated R-SMAD«-Proteine (SMAD 1/5/8) vermittelt (Goumans et al. 2002; Zawel et al. 1998). Nach Assoziation mit Co-SMAD-Proteinen, z. B. SMAD4, erfolgt eine Translokation dieses Komplexes in den Zellkern, wo eine Modulation der Transkription von Target-Genen stattfindet.

In einigen Fällen wurde eine Koinzidenz der familiären juvenilen Polyposis (verursacht über eine MADH4-Genmutation auf Chromosom 18) mit HHT und Ausbildung der typischen angiodysplastischen Veränderungen beobachtet, ohne dass Mutationen von ENG oder ALK1 nachzuweisen waren (Gallione et al. 2004). Das kodierte Protein ist SMAD4. Letzteres ist wie die beiden Rezeptoren Endoglin und ALK1 Teil einer TGF-β-Signalkaskade, die eine Rolle bei der Modulation der Funktionen von Endothel-, Muskel- und Bindegewebszellen bei Angiogenese, Zellmigration, -differenzierung und -adhäsion sowie der Synthese der Extrazellulärmatrix spielt (Fernandez-Lopez et al. 2006).

> **! Aufgrund der potenziellen Malignität der Hamartome (insbesondere Kolon, Magen und Pankreas) sollten Patienten mit HHT und fehlendem Nachweis der Mutationen von ENG oder ALK1-Gen unbedingt auf das Vorliegen einer familiären juvenilen Polyposis untersucht werden (Gallione et al. 2006).**

Ein weiteres Gen (HHT 3), das zu einer ausgeprägten pulmonalen Beteiligung führt, wird auf Chromosom 5 vermutet (Cole et al. 2005; Wallace u. Shovlin 2000). Auch wurde ein Zusammenhang zur primären pulmonalen Hypertonie gesehen, deren Gen auf Chromosom 2 lokalisiert ist und für BMPR 2 (»bone morphogenetic protein receptor II«) kodiert, das ebenfalls ein Rezeptor aus der Familie der TGF-β-Rezeptoren darstellt (Trembath et al. 2001).

Anhand von Genotyp-Phänotyp-Korrelationen konnte gezeigt werden, dass pulmonale und zerebrale AVM signifikant häufiger bei der HHT 1 vorkommen (pAVM: 75% vs. 44%, p<0,0005, bzw. cAVM: 20% vs. 0%, p<0,002%), während hepatische AVM signifikant häufiger bei der HHT-2 vorkommen (60% vs. 84%, p<0,01; Sabba et al. 2007).

## Diagnostik

### Diagnosekriterien

Die klinische Diagnose erfolgt anhand der 1999 aufgestellten Curaçao-Kriterien (Shovlin et al. 2000):
- Epistaxis, spontan und rezidivierend,
- multiple mukokutane Teleangiektasien (v. a. im Bereich von Lippen, Mundhöhle, Nase und Fingern),
- viszerale Beteiligung (v. a. gastrointestinal, hepatisch, pulmonal und zerebral),
- positive Familienanamnese mit einem Verwandten ersten Grades mit HHT.
- Auswertung:
- 0–1 Kriterien erfüllt: HHT unwahrscheinlich,
- 2 Kriterien erfüllt: HHT möglich,
- 3–4 Kriterien erfüllt: HHT sicher.

Patienten sowie deren betroffene Familienangehörige (Genträger) sollten – auch bei Fehlen von Symptomen – auf das Vorliegen viszeraler AVM, insbesondere von zerebralen und pulmonalen Manifestationen gescreent werden, um Morbidität und Mortalität dieser Erkrankung zu senken (Sabba et al. 2005). Allerdings gibt es weiterhin keine einheitlichen Empfehlungen zum Screening.

Die Diagnose mukokutaner Teleangiektasien erfolgt klinisch, auch hat die Kapillarmikroskopie mit Nachweis von Riesenkapillaren einen gewissen Stellenwert (Mager u. Westermann 2000).

Die Diagnose einer gastrointestinalen Beteiligung erfolgt mittels Endoskopie, Kapselendoskopie oder in schwierigen Fällen angiographisch.

Hepatische Malformationen sind sehr gut sonographisch zugänglich, eine genauere Diagnostik ist ebenso wie bei zerebralen und pulmonalen AVM mittels hrCT, MRT, MR-Angiographie und Angiographie möglich (Remy et al. 1992). Aufgrund der Größenzunahme von pulmonalen AVM sind regelmäßige Follow-up-Untersuchungen indiziert.

Pulmonale Shunts können häufig ebenfalls mittels Kontrastmittelechokardiographie nachgewiesen werden (Oxhoj et al. 2000). Die Pulsoxymetrie ist ein sehr ungenaues Verfahren, jedoch lässt sich bei relevantem Rechts-links-Shunt eine Verbesserung der Oxygenierung in aufrechter Körperposition durch erhöhten Fluss in den meist in den basalen Lungenabschnitten lokalisierten AVM erzielen. Aufgrund der häufig basalen Lokalisation der pulmonalen AVM eignet sich das Röntgen-Thorax nicht als Screening-Verfahren.

Eine Pränataldiagnostik mittels Amniozentese oder Villozentese ist möglich.

## Therapie

Aufgrund der ausgeprägten klinischen Variationsbreite mit Beteiligung verschiedener Organsysteme ist häufig ein interdisziplinäres Vorgehen erforderlich. Kausale Therapiemöglichkeiten fehlen, daher steht die symptomatische Behandlung sowie die Prävention von Komplikationen im Vordergrund. Da keine großen kontrollierten, randomisierten Therapiestudien existieren, sind keine dezidierten Therapieempfehlungen möglich.

Mukokutane Teleangiektasien können mittels Laserkoagulation behandelt werden. Zur Behandlung der Epistaxis und gastrointestinaler Blutungskomplikationen stehen neben interventionellen und chirurgischen Therapieoptionen (Laserphotokoagulation, septale mukosale Dermatoplastie, selektive Embolisierung von Gefäßen) auch medikamentöse Optionen zur Verfügung (Tranexamsäure, Östrogen-/Progesteron-Präparationen, Danazol, Octreotid, Aminokapronsäure; Vase et al. 1986; Sabba et al. 2001; Sabba 2005). Allerdings fehlen auch bei den medikamentösen Therapien außer bei den östrogenbasierten (van Cutsem et al. 1990) randomisierte Studien mit größeren Fallzahlen.

Im Bereich der Nase führen Tamponaden häufig zu weiterer Mikrotraumatisierung. Prophylaktisch sind lipidhaltige Nasensalben zu empfehlen (Lund u. Howard 1999). Bei Auftreten von chronischen Blutungsanämien sind ggf. Eisensubstitution und Bluttransfusionen erforderlich.

Zerebrale AVM können mittels Embolisations- oder stereotaktischer Radiotherapie oder mikrochirurgischer Exzision behandelt werden, wobei größere Angiodysplasien (>3 cm) eher einer Embolisation zugeführt werden und kleinere (<3 cm) eher einer stereotaktischen Radiotherapie (De Cillis et al. 2006). Auch pulmonale oder hepatische AVM können mittels Embolisationstherapie behandelt werden (Lee et al. 1997). Aufgrund der häufig zu beobachtenden Größenprogredienz pulmonaler AVM besteht eine Behandlungsempfehlung, wenn der Durchmesser der »feeding artery« mehr als 3 mm beträgt (De Cillis et al. 2006).

Asymptomatische hepatische AVM werden in der Regel nicht behandelt. Bei Auftreten von Leberversagen kann eine Organtransplantation notwendig werden (Scelzo et al. 2007). Aufgrund der möglichen iatrogenen Komplikationen ist die Indikation zur Embolisationstherapie von hepatischen AVM streng zu stellen (Whiting et al. 2000).

## Ausblick

Mit den aktuellen molekulargenetischen Fortschritten mit Identifizierung der zugrunde liegenden Genmutationen eröffnet sich die Möglichkeit, betroffene Familien schneller zu screenen und die aufwendige Diagnostik zum Ausschluss einer viszeralen Beteiligung nur auf die Genträger zu beschränken (Prigoda et al. 2006). Sicherlich bleibt abzuwarten, ob weitere Mutationen identifiziert werden können. Gleichzeitig bietet sich zukünftig ein interessanter kausaler gentherapeutischer Behandlungsansatz.

Informationen im Internet finden sich unter www.hht.org.

## Literatur


Abdalla SA, Letarte M (2006) Hereditary hameorrhagic telangiectasia : current views on genetics and mechanism of disease. J Med Genet 43: 97–110

Cheifetz S, Bellon T, Cales C, Vera S, Bernabeu C, Massague J, Letarte M (1992) Endoglin is a component of the transforming growth factor-beta receptor system in human endothelial cells. J Biol Chem 267: 19027–19030

Cole S, Begbie M, Wallace G, Shovlin C (2005) A new locus for hereditary haemorrhagic telangiectasia (HHT3) maps to chromosome 5. J Med Genet 42: 577–582

Dahlgren LS, Effer SB, McGillivray BC, Pugash DJ (2006) Pregnancy with uterine vascular malformations associated with hemorrhagic hereditary telangiectasia: a case report. J Obstet Gynaecol Can 28:720–723

De Cillis E, Burdi N, Bortone AS, D'Agostino D, Fiore T, Ettorre GC, Resta M (2006) Endovascular treatment of pulmonary and cerebral arteriovenous malformations in patients affected by hereditary haemorrhagic teleangiectasia. Curr Pharm Des 12(10):1243–8

Easey AJ, Wallace GM, Hughes JM, Jackson JE, Taylor WJ, Shovlin CL (2003) Should asymptomatic patients with hereditary haemorrhagic telangiectasia (HHT) be screened for zerebral vascular malformations? Data from 22,061 years of HHT patient life. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr 74: 743–748

Faughnan ME, Lui YW, Wirth JA, Pugash RA, Redelmeier DA, Hyland RH, White RI Jr. (2000) Diffuse pulmonary arteriovenous malformations: characteristics and prognosis. Chest 117: 31–8

Fernandez-Lopez A, Sanz-Rodriguez F, Blanco FJ, Bernabeu C, Botella LM (2006) Hereditary hemorrhagic telangiectasia, a vascular dysplasia affecting the TGF-beta signaling pathway. Clin Med Res 4: 66–78

Fulbright RK, Chaloupka JC, Putman CM, Sze GK, Merriam MM, Lee GK, Fayad PB, Awad IA, White RI Jr. (1998) MR of hereditary hemorrhagic telangiectasia: prevalence and spectrum of cerebrovascular malformations. AJNR Am J Neuroradiol 19: 477–484

Gallione CJ, Richards JA, Letteboer TGW et al. (2006) SMAD4 mutations found in unselected HHT patients. J Med Genet 43: 793–793

Gallione CJ, Repetto GM, Legius E et al. (2004) A syndrome of juvenile polyposis and hereditary haemorrhagic telangiectasia associated with mutations in MADH4 (SMAD4). Lancet 363: 852–859

Garcia-Tsao G, Korzenik JR, Young L, Henderson KJ, Jain D, Byrd B, Pollak JS, White RI Jr. (2000) Liver disease in patients with hereditary hemorrhagic telangiectasia. N Engl J Med 343: 931–936

Goumans MJ, Valdimarsdottir G, Itoh S, Rosendahl A, Sideras P, ten Dijke P (2002) Balancing the activation state of the endothelium via two distinct TGF-β type I receptors. EMBO J 21: 1743–1753

Guttmacher AE, Marchuk DA, White RI (1995) Hereditary hemorrhagic telangiectasia. NEJM 333: 918–924

Hanes FM (1909) Multiple hereditary telangiectases causing hemorrhage (hereditary hemorrhagic telangiectasia). Bull Johns Hopkins Hosp 20: 63–73

Hsi DH, Ryan GF, Hellems SO, Cheeran DC, Sheils LA (2003) Large aneurysms of the ascending aorta and major coronary arteries in a patient with hereditary hemorrhagic telangiectasia. Mayo Clin Proc 78: 774–776

Ianora AA, Memeo M, Sabba C, Cirulli A, Rotondo A, Angelelli G (2004) Hereditary hemorrhagic telangiectasia: multi-detector row helical CT assessment of hepatic involvement. Radiology 230: 250–259

Jerkic M, Rivas-Elena JV, Santibanez JF, Prieto M, Rodriguez-Barbero A, Perez-Barriocanal F, Pericacho M, Arevalo M, Vary CPH, Letarte M, Bernabeu C, Lopez-Novoa JM (2006) Endoglin regulates cyclooxygenase-2 expression and activity. Circ Res 99: 248–256

Johnson DW, Berg JN, Baldwin MA et al. (1996) Mutations in the activin receptor-like kinase 1 gene in hereditary haemorrhagic telangiectasia type 2. Nat Genet 13: 189–195

Knox FA, Frazer DG (2004) Ophthalmic presentation of hereditary haemorrhagic telangiectasia. Eye 18: 947–949

Koleva RI, Conley BA, Romero D, Riley KS, Marto JA, Lux A, Vary CPH (2006) Endoglin structure and function. Determinants of endoglin phosphorylation by transforming growth factor-β receptors. J Biolog Chem 281: 25110–25123

Lande A, Bedford A, Schechter LS (1976) The spectrum of arteriographic findings in Osler-Weber-Rendu disease. Angiology 27: 223–240

Lee DW, White RI Jr, Egglin TK, Pollak JS, Fayad PB, Wirth JA, Rosenblatt MM, Dickey KW, Burdge CM (1997) Embolotherapy of large pulmonary arteriovenous malformations: long-term results. Ann Thorac Surg 64: 930–940

Lenato GM, Lastella P, Di Giacomo MC, Resta N, Suppressa P, Pasculli G, Sabba C, Guanti G (2006) DHPLC-based mutation analysis of ENG and ALK-1 genes in HHT Italian population. Hum Mutat Feb 27: 213–214

Lenato GM, Guanti G (2006) Hereditary haemorrhagic telangiectasia (HHT): genetic and molecular aspects. Curr Pharm Des 12: 1173–1193

Letteboer TG, Zewald RA, Kamping EJ et al. (2005) Hereditary hemorrhagic telangiectasia: ENG and ALK-1 mutations in Dutch patients. Hum Genet 116: 8–16

Lund VJ, Howard DJ (1999) A treatment algorithm for the management of epistaxis in hereditary hemorrhagic telangiectasia. Am J Rhinol 13: 319–322

Mager JJ, Westermann CJ (2000) Value of capillary microscopy in the diagnosis of hereditary hemorrhagic telangiectasia. Arch Dermatol 136: 732–734

McAllister KA, Grogg KM, Johnson DW et al. (1998) Liver failure caused by hepatic angiodysplasia in hereditary hemorrhagic telangiectasia. Am J Gastroenterol 93: 471–473

Osler W (1901) On family form of recurring epistaxis, associated with multiple telangiectases of skin and mucous membranes. Bull Johns Hopkins Hosp 12: 333–337

Oxhoj H, Kjeldsen AD, Nielsen G (2000) Screening for pulmonary arteriovenous malformations: contrast echocardiography versus pulse oximetry. Scand Cardiovasc J 34: 281–5

Plauchu H, de Chadarevian JP, Bideau A, Robert JM (1989) Age-related clinical profile of hereditary hemorrhagic telangiectasia in an epidemiologically recruited population. Am J Med Genet 32: 291–297

Porteous ME, Burn J, Proctor SJ (1992) Hereditary hemorrhagic telangiectasia: a clinical analysis. J Med Genet 29: 527–530

Press OW, Ramsey PG (1984) Entral nervous system infections assocated with hereditary hemorrhagic telangiectasia. Am J Med 77: 86–92

Prigoda NL, Savas S, Abdalla SA, Piovesan B, Rushlow D, Vandezande K, Zhang E, Ozcelik H, Gallie BL, Letarte M (2006) Hereditary haemorrhagic telangiectasia: mutation detection, test sensitivity and novel mutations. J Med Genet 43: 722–728

Reilly PJ, Nostrant TT (1984) Clinical manifestations of hereditary hemorrhagic telangiectasia. Am J Gastroenterol 79: 363–367

Remy J, Remy-Jardin M, Wattinne L, Deffontaines C (1992) Pulmonary arteriovenous malformations: evaluation with CT of the chest before and after treatment. Radiology 182: 809–816

Rendu HJLM (1896) Épistaxis répétées chez un sujet porteur de petits angiomes cutanés et muqueux. Bull Soc Med Hop 13: 731–733

Römer W, Burk M, Schneider W (1992) Hereditäre hämorrhagische Teleangiektasie (Morbus Osler). Dtsch Med Wochenschr 117: 669–675

Sabba C, Pasculli G, Lenato GM, Suppressa P, Lastella P, Memeo M, Dicuonzo F, Guanti G (2007) Hereditary hemorrhagic telangiectasia: clinical features in ENG and ALK1 mutation carriers. J Thromb Haemost 5: 1149–1157

Sabba C (2005) A rare and misdiagnosed bleeding disorder: hereditary hemorrhagic telangiectasia. J Thromb Haemost 3: 2201–2210

Sabba C, Gallitelli M, Palasciano G (2001) Efficacy of unusually high doses of tranexamic acid for the treatment of epistaxis in hereditary hemorrhagic telangiectasia. N Engl J Med 345: 926
Sadick H, Sadick M, Götte K, Naim R, Riedel F, Bran G, Hörmann K (2006) Hereditary hemorrhagic telangiectasia: an update on clinical manifestations and diagnosis measures. Wien Klin Wochenschr 118: 72–80
Scelzo C, Greco S, Bonanni L, Di Cocco P, D'Angelo M, Laurenzi C, Pisani F, Famulari A, Orlando G (2007) The role of liver transplantation in the treatment of hereditary hemorrhagic telangiectasia: a short literature review. Transplant Proc 39: 2045–2047
Shovlin CL, Guttmacher AE, Buscarini E, Faughnan ME, Hyland RH, Westermann CJJ, Kjeldsen AD, Plauchu H (2000) Diagnostic criteria for hereditary hemorrhagic telangiectasia (Rendu-Osler-Weber syndrome). Am J Med Genet 91: 66–67
Shovlin CL, Winstock AR, Peters AM, Jackson JE, Hughes JM (1995) Medical complications of pregnancy in hereditary haemorrhagic telangiectasia. QJM 88: 879–887
Toporsian M, Gros R, Kabir MG, Vera S, Govindaraju K, Eidelman DH, Husain M, Letarte M (2005) A role for endoglin in coupling eNOS activity and regulating vascular tone revealed in hereditary hemorrhagic telangiectasia. Circ Res 96: 684–692
Trembath RC, Thomson JR, Machado RD et al. (2001) Clinical and molecular genetic features of pulmonary hypertension in patients with hereditary hemorrhagic telangiectasia. New Engl J Med 345: 325–443
Van Cutsem E, Rutgeerts P, Vantrappen G (1990) Treatment of bleeding gastrointestinal vascular malformations with oestrogen-progesterone. Lancet 335: 953–955
Vase P, Grove O (1986) Gastrointestinal lesions in hereditary hemorrhagic telangiectasia. Gastroenterology 91: 1079–1083
Vase P, Holm M, Arendrup H (1985) Pulmonary arteriovenous fistulas in hereditary hemorrhagic telangiectasia. Acta Med Scand 218: 105–109
Wallace GM, Shovlin CL (2000) A hereditary haemorrhagic telangiectasia family with pulmonary involvement is unlinked to the known HHT genes, endoglin and ALK-1. Thorax 55: 685–690
Weber EP (1907) Multiple hereditary developmental angiomata (telangiectasia) of the skin and mucous membranes associated with recurring hemorrhages. Lancet 2: 160–162
Westermann CJ, Rosina AF, De Vries V, de Coteau PA (2003) The prevalence and manifestations of hereditary haemorrhagic telangiectasia in the afro-caribbean population of the Netherlands Antilles: a family screening. Am J Med Genet 116: 324–328
Westermann CJJ, Porteous ME, Guttmacher AE, Letarte M, Marchuk DA (1994) Endoglin, a TGF-beta binding protein of endothelial cells, is the gene for hereditary haemorrhagic telangiectasia type 1. Nat Genet 8: 345–351
Whiting JH Jr, Korzenik JR, Miller FJ Jr, Pollack JS, White RI Jr. (2000) Fatal outcome after embolotherapy for hepatic arteriovenous malformations of the liver in two patients with hereditary hemorrhagic telangiectasia. J Vasc Interv Radiol 11: 855–858
Zawel L, Dai JL, Buckhaults P, Zhou S, Kinzler KW, Vogelstein B, Kern SE (1998) Human Smad3 and Smad4 are sequence-specific transcription activators. Mol Cell 1: 611–617
Ziani M, Valignat C, Lopez JG, Ruffion A, Plauchu H, Perrin P (2000) Renal arteriovenous malformation requiring surgery in Rendu-Osler-Weber disease (hereditary hemorrhagic telangiectasia). J Urol 164: 1292–1293

## 30.9 Hepatische, urämische und malignomassoziierte Gerinnungsstörungen

*B. Pötzsch, K. Madlener*



### Einleitung

Ein funktionierendes Hämostasesystem erfordert das koordinierte Zusammenwirken von verschiedenen Organen und Organsystemen. Erkrankungen von Organen, die in dieses biologische Netzwerk eingebunden sind, können Hämostasestörungen induzieren. Zu dieser Gruppe gehören die hepatische, die urämische, die leukämische sowie die mit dem Auftreten von soliden malignen Tumoren assoziierte Hämostasestörung.

Die Hämostasestörungen sind komplex. Sie sind die Folge von Synthesestörungen, endothelialer und thrombozytärer Dysfunktion sowie einer Hyperfibrinolyse. Bei hepatischen und urämischen Gerinnungsstörungen steht die Blutungsneigung im Vordergrund, bei malignen Erkrankungen steigt das Thromboserisiko deutlich an. Die Laboranalytik beinhaltet die Bestimmung von Thrombozytenzahl, Thrombozytenfunktion, Globaltests und ggf. Einzelfaktoren sowie Fibrinolysefaktoren.

Die kausale Therapie der Gerinnungsstörung erfordert die Behandlung der Grunderkrankung. Zielsetzung der hämostaseologischen Therapie ist es, akute Blutungskomplikationen oder Thrombosen zu behandeln oder durch entsprechende prophylaktische Maßnahmen zu vermeiden.

### 30.9.1 Hepatische Gerinnungsstörungen

#### Pathophysiologie

Die hepatische Gerinnungsstörung ist eine komplexe Hämostasestörung. Sie kann fast alle Komponenten des Hämostasesystems betreffen und ist durch einen Faktorenmangel, eine Hyperfibrinolyse und eine thrombozytäre Gerinnungsstörung gekennzeichnet (Blonski et al. 2007).

Die gestörte Leberfunktion führt zu einer Erniedrigung aller in der Leber synthetisierten Gerinnungsfaktoren. Die Synthese der Vitamin-K-abhängigen Faktoren kann zusätzlich durch einen Vitamin-K-Mangel eingeschränkt sein.

Eine weitere wichtige Funktion der Leber im Hämostasestoffwechsel ist die Klärung von aktivierten Gerinnungsfaktoren und Fibrinolysefaktoren (Ferguson et al. 2008). Die mit einer Leberfunktionsstörung verbundene Hyperfibrinolyse wird zum Teil mit einer Einschränkung dieser Klärungsfunktion der Leber erklärt. Weitere eine Hyperfibrinolyse verursachende Faktoren sind die verminderte Synthese von Fibrinolyseinhibitoren wie dem $\alpha_2$-Antiplasmin und eine gesteigerte kontinuierliche Gerinnungsaktivierung, die über die Bildung von löslichem Fibrin das Fibrinolysesystem aktiviert. Erklärt wird die latente Gerinnungsaktivierung mit einer Störung des hepatoenteralen Systems, die zu einer verstärkten Resorption von Endotoxin bei einer gleichzeitig verminderten Endotoxinklärung durch die Leber führt (Lisman u. Leebeek 2007).

Die thrombozytäre Gerinnungsstörung wird durch eine kombinierte Thrombozytopenie und -pathie ausgelöst. Ursache der Thrombozytopenie ist in erster Linie ein verstärktes Pooling der Thrombozyten in der meist vergrößerten Milz (Schmidt et al. 1985). Die Thrombozytopenie kann durch eine verminderte Thrombozytopoese verstärkt werden, die durch einen Thrombopoetinmangel ausgelöst wird. Die Thrombozytopathie wird durch eine Proteolyse der Glykoproteinrezeptoren und durch einen verminderten Gehalt der intrathrombozytären Adeninnukleotide ausgelöst.

Weitere Ursachen der hepatischen Gerinnungsstörung sind die Synthese von Gerinnungsfaktoren mit einem gestörten Glykosilierungsmuster und eine verstärkte Freisetzung von endogenem Heparin in die Zirkulation. Bei Patienten mit Leberzirrhose wurden Anti-FXa-Einheiten zwischen 0,1 und 0,2 U/ml gemessen, ein Spiegel der dem unteren therapeutischen Bereich bei prophylaktischer Dosierung entspricht (Agarwal et al. 2008).

Faktor VIII und der Von-Willebrand-Faktor werden nicht in Hepatozyten, sondern von sinusoidalen und vaskulären Endothelzellen synthetisiert. Diese Faktoren sind daher nicht von einer Einschränkung der hepatischen Synthesekapaziptät betroffen. Umgekehrt kommt es durch einen bisher nicht geklärten Mechanismus zu einem Anstieg der FVIII-Aktivität. Dies kann zum Teil die erhöhte Thromboseneigung erklären.

#### Klinik

Die hepatische Gerinnungsstörung ist mit einem erhöhten Blutungs- und Thromboserisiko verbunden. Das spontane Blutungsrisiko ist auch bei schwerer Leberfunktionsstörung eher niedrig und manifestiert sich in Form von petechialen Blutungen, Schleimhautblutungen, Nasenbluten und Zahnfleischbluten (Lisman u. Leebeek 2007). In Risikosituationen, wie operativen Eingriffen, können schwere Blutungskomplikationen auftreten.

Das Risiko zur Entwicklung von Thrombosen ist bei Patienten mit Leberfunktionsstörungen erhöht. Insbesondere Thrombosen der V. porta und der V. cava inferior treten gehäuft auf. Die veränderten Strömungsbedingungen sowie die kontinuierliche Gerinnungsaktivierung sind auslösende Faktoren.

#### Diagnostik

Die hämostaseologische Diagnostik wird zur Bestätigung der Verdachtsdiagnose hepatische Gerinnungsstörung und zur Beurteilung des Schweregrads der Gerinnungsstörung eingesetzt (Thachil 2008). Sie sollte Parameter umfassen, mit denen die thrombozytäre und plasmatische Gerinnungsstörung sowie die Hyperfibrinolyse erkannt werden können (Tab. 30.24).

In Abhängigkeit vom Schweregrad der Lebersynthesestörung sind die Konzentrationen der Gerinnungsfaktoren mit Ausnahme von Faktor VIII erniedrigt. Während beim akuten schweren Leberversagen die Synthese aller hepatischen Gerinnungsfaktoren gleichzeitig betroffen ist, kommt es bei chronisch progredienten Lebererkrankungen meist zunächst zu einer Verminderung der Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren (Caldwell et al. 2006). Dies

**Tab. 30.24.** Diagnostik einer hepatischen Gerinnungsstörung

| Parameter | Befund |
|---|---|
| Quick-Wert | Erniedrigt |
| Aktivierte partielle Thromboplastinzeit | Verlängert |
| Fibrinogenkonzentration | Erniedrigt |
| Faktoraktivität (Faktoren II, V, VII, IX, X, XI, XIII) | Erniedrigt |
| Faktor-VIII-Aktivität | Erhöht |
| D-Dimer | Erhöht |
| Antithrombinaktivität | Erniedrigt |
| Thrombozytenzahl | Erniedrigt |
| Thrombozytenfunktion | Eingeschränkt |
| Anti-FXa-Aktivität | Ohne Heparingabe erhöht |
| $\alpha_2$-Antiplasmin | Erniedrigt |

wird durch den zusätzlich bestehenden Vitamin-K-Mangel begünstigt. Dementsprechend ist bei chronisch progredienten Leberfunktionsstörungen zunächst der Quick-Wert erniedrigt. Im weiteren Krankheitsverlauf kommt es dann zu einer Abnahme der Fibrinogenkonzentration, der Faktor-V-Konzentration und der Antithrombinkonzentration.

Durch Bestimmung der Thrombozytenzahl und der In-vitro-Blutungszeit kann der Schweregrad der häufig kombiniert vorliegenden Thrombozytopenie und -pathie eingeschätzt werden. Zur Bestimmung der Thrombozytenfunktionsstörung sind auch andere Verfahren wie die Thrombozytenaggregation nach Born geeignet.

Mit der Anti-FXa-Bestimmung kann eine endogene Heparinwirkung erkannt und quantifiziert werden. Von einem signifikanten Heparineffekt ist bei Werten >0,1 Anti-FXa-Einheiten auszugehen. Hinweise auf das Vorliegen einer Hyperfibrinolyse kann das Thrombelastogramm geben.

**! Anhand der aufgeführten Laborparameter ist eine Beurteilung des Schweregrads der hepatischen Dysfunktion möglich. Das Blutungsrisiko eines Patienten kann damit aber nur grob eingeschätzt werden.**

Dies liegt daran, dass Begleiterkrankungen, das Lebensalter des Patienten und andere Faktoren die Blutungsneigung beeinflussen.

### Therapie

Das therapeutische Vorgehen bei einer Blutung orientiert sich am Schweregrad der Blutung und dem Ausmaß der hepatischen Funktionsstörung. Im Fall von transfusionspflichtigen Blutungen ist meist eine Transfusion von Thrombozyten und Faktorenkonzentraten kombiniert mit Frischplasma erforderlich (Lisman u. Leebeek 2007; Cladwell et al. 2006). Die Zielwerte orientieren sich an den Zielwerten einer Verlustkoagulopathie (▶ Kap. 30.10).

Besonders schwierig ist die Thrombozytopenie zu behandeln, da die Thrombozytenüberlebenszeit stark verkürzt ist. Bei schweren bedrohlichen Blutungen sollte trotzdem die Thrombozytengabe fortgesetzt werden. Als Ultima Ratio steht die Gabe von rekombinantem FVIIa zur Verfügung.

Bei leichten Blutungen besteht meist keine Therapienotwendigkeit. Besteht in Einzelfällen Handlungsbedarf, kann eine Stimulationstherapie mit DDAVP in Kombination mit einer antifibrinolytischen Therapie erfolgreich sein (Kap. 50.1). Die Vitamin-K-Substitution kann die Syntheseleistung trotz eingeschränkter Lebersyntheseleistung verbessern.

Bei Patienten ohne Blutungskomplikationen kann zur Blutungsprophylaxe die Gabe von Tranexamsäure erwogen werden. Eine Indikation zur Substitution von Thrombozyten und Gerinnungsfaktoren besteht bei fehlenden Blutungszeichen nicht. Auch im akuten Leberversagen können sehr niedrige Grenzwerte toleriert werden.

### Hämostasemanagement der Lebertransplantation

Die Lebertransplantation wird als maximale Therapiemaßnahme bei verschiedenen Lebererkrankungen eingesetzt. Dazu zählen die Behandlung des akuten schweren Leberversagens, des chronischen terminalen Leberversagens, von schweren angeborenen Leberstoffwechselstörungen sowie des hepatozellulären Karzinoms (Senzolo et al. 2006).

Diese heterogene Gruppe von Indikationen verdeutlicht, dass ein Teil der Patienten zum Zeitpunkt der Lebertransplantation keine hepatische Gerinnungsstörung aufweisen, während andere Patienten sich mit schwersten Gerinnungsstörungen präsentieren. Diese unterschiedliche Ausgangslage muss in der Planung des hämostaseologischen Managements der Lebertransplantation genauso berücksichtigt werden wie vorhandene Begleiterkrankungen, die eingesetzte Operationstechnik sowie Zeitpunkt und Dauer der anhepatischen Phase.

#### Präoperatives Management

Nationale oder internationale Leitlinien zum perioperativen Management liegen nicht vor. Eine Einschätzung des Schweregrades der hepatischen Gerinnungsstörung ist mit den in Tab. 30.25 genannten Parametern möglich.

Bei Ausschluss einer klinisch relevanten hepatischen Gerinnungsstörung (Gruppe 1) und bei Patienten der Gruppe 2 mit milder hepatischer Gerinnungsstörung ist keine präoperative hämostaseologische Therapie erforderlich. Bei Patienten der Gruppe 3 dominiert die plasmatische Gerin-

**Tab. 30.25.** Einteilung von Lebertransplantationspatienten zur Einschätzung der hepatischen Gerinnungsstörung

| Parameter | Gruppe 1 | Gruppe 2 | Gruppe 3 | Gruppe 4 | Gruppe 5 |
|---|---|---|---|---|---|
| Thrombozyten/µl | >100.000 | 50.000–100.000 | 50.000–100.000 | <50.000 | <50.000 |
| Quick-Wert [%] | >50 | >50 | <50 | >50 | <50 |
| Fibrinogen [mg/dl] | >150 | >150 | <150 | >150 | <150 |
| Faktor-V-Aktivität [%] | >50 | >50 | <50 | >50 | <50 |

nungsstörung. In Abhängigkeit vom Ausmaß des Faktorenmangels und der Volumentoleranz des Patienten wird eine präoperative Substitution mit Gerinnungsfaktorenkonzentraten und/oder gefrorenem Frischplasma (FFP) empfohlen.

In der Gruppe 4 dominiert die Thrombozytopenie. Deswegen wird eine präoperative Thrombozytengabe empfohlen. Gruppe-5-Patienten weisen eine schwere hepatische Gerinnungsstörung auf, sodass intraoperativ mit einer schnellen und klinisch manifesten Entgleisung des Hämostasesystems zu rechnen ist. Zur Operationsvorbereitung wird bei diesen Patienten die präoperative Gabe von Thrombozytenkonzentraten und eine Substitution von Gerinnungsfaktoren empfohlen. Die Wahl der Medikamente zur Substitution der Gerinnungsfaktoren ist abhängig von der Volumentoleranz des Patienten.

### Intraoperatives Hämostasemanagement

Aufgrund der eingeschränkten Synthesekapazität entwickeln Patienten während der Lebertransplantation bei auftretenden Blutungen frühzeitig eine Verlustkoagulopathie. Während der anhepatischen Phase kommt es zu einer Hyperfibrinolyse, die das Blutungsrisiko weiter erhöht.

**! Im Vordergrund des intraoperativen Hämostasemanagements stehen die Prophylaxe einer Verlust- bzw. Dilutionskoagulopathie und die Vermeidung einer Hyperfibrinolyseblutung.**

Zur Vermeidung einer Verlust- bzw. Dilutionskoagulopathie werden intraoperativ die in Tab. 30.26 zusammengefassten Transfusionstrigger empfohlen.

Die Prophylaxe und Therapie der Hyperfibrinolyse wird mit Tranexamsäure nach dem in Tab. 30.27 dargestellten Schema durchgeführt. Bei Patienten mit schwerer hepatischer Hämostasestörung (Gruppe 5) kann im Einzelfall eine frühzeitige Gabe von Tranexamsäure in einer Dosierung von 10 mg/kgKG pro Stunde sinnvoll sein.

**Tab. 30.27.** Intraoperative Tranexamsäuregabe

| Dosierung [mg/kgKG] | Zeitpunkt |
|---|---|
| 50 | 5–10 min vor anhepatischer Phase |
| 10–20 | Kontinuierliche Infusion nach Bolusgabe |

### Postoperatives Hämostasemanagement

Zur Thromboseprophylaxe wird in der frühen postoperativen Phase die Gabe eines unfraktionierten Heparins empfohlen. Die Dosierung ist abhängig von der Blutungssymptomatik. Bei stabilen Patienten wird eine Dosierung von 200 E/h empfohlen. Entsprechend dem klinischen Verlauf kann die Dosis angepasst werden oder eine Umstellung auf ein niedermolekulares Heparin in prophylaktischer Dosierung erfolgen. Bei Patienten mit anhaltenden Blutungen ist eine Einzelfallentscheidung erforderlich.

## 30.9.2 Urämische Gerinnungsstörung

### Pathophysiologie

Die Urämie induziert eine thrombozytäre und endotheliale Dysfunktion. Zu einer Einschränkung der Thrombozytenfunktion kommt es durch eine gestörte Glykoproteinrezeptor-Liganden-Interaktion sowie durch eine Verminderung der ADP- und ATP-Konzentration in den Thrombozyten (Ho et al. 2008). Die thrombozytäre Funktionsstörung wird durch eine Thrombozytopenie verstärkt, die durch eine toxische Knochenmarkschädigung ausgelöst wird.

Ein weiterer pathophysiologischer Faktor ist die durch den Erythropoetinmangel induzierte Anämie. Dadurch kommt es zu einer Störung des laminaren Strömungsprofils, das unter physiologischen Bedingungen die Thrombo-

**Tab. 30.26.** Intraoperatives Hämostasemanagement bei Lebertransplantation

| Komponente | Transfusionstrigger | Bemerkung |
|---|---|---|
| Thrombozyten | <50.000/µl | |
| FFP | – Bis 10. EK 1:2<br>– nach 10. EK 1:1 | – Zitratbelastung beachten<br>– bei starker Blutung Ergänzung durch Faktorenkonzentrate |
| Fibrinogen | <50 mg/dl | – 3 g Fibrinogenkonzentrat<br>– parallele Antifibrinolytikagabe |
| PPSB | Quick-Wert <40% | – 25 E/kgKG als Bolus<br>– Kopplung mit Antithrombingabe |
| Antithrombin | <20% | – 25 E/kgKG als Bolus<br>– bei Kopplung mit PPSB: Hälfte der PPSB-Dosierung |

*EK* Erythrozytenkonzentrat; *FFP* »Fresh frozen plasma«; *PPSB* Prothrombinkomplexkonzentrat

zyten an den Rand der Gefäßwand und damit in unmittelbaren Kontakt zu der Endothelzelloberfläche bringt.

Auf endothelialer Ebene kommt es zu einer Störung der Synthese von vasoaktiven Substanzen, wie z. B. dem NO, und zu einer Störung der vWF-Freisetzung (Molino et al. 2006). Die Folge der endothelialen Dysfunktion und der Thrombozytopathie ist eine verstärkte Blutungsneigung. Die Blutungsneigung wird weiterhin durch Angiodysplasien verstärkt, die v. a. im gastrointestinalen Schleimhautbereich auftreten. Ihre Pathogenese ist bisher nicht verstanden.

### Klinik

Patienten mit einer urämischen Gerinnungsstörung haben ein erhöhtes Blutungsrisiko. Häufig kommt es zu petechialen Blutungen und Schleimhautblutungen. Gastrointestinale Blutungen sind eine weitere typische Blutungskomplikation (Zuckeman 1985).

Auch bedrohliche Blutungskomplikationen, zu denen subdurale und subarachnoidale Blutungen sowie hämorrhagische Perikard- und Pleuraergüsse gehören, sind im Zusammenhang mit einer urämischen Gerinnungsstörung beschrieben worden. Epistaxis und Menorrhagien sind eher selten. Intraartikuläre Blutungen treten fast nicht auf. Thrombotische Komplikationen sind nicht typisch für die urämische Hämostasestörung.

### Diagnostik

Die Thrombozytenzahlen liegen im unteren Referenzbereich oder sind leicht erniedrigt. Schwere Thrombozytopenien sind eher selten und weisen auf eine zusätzliche Hämostasestörung hin. Als Zeichen der Thrombozytopathie findet sich eine verlängerte In-vitro-Blutungszeit und eine eingeschränkte Thrombozytenaggregationsfähigkeit nach Stimulation mit ADP und Kollagen. Das vWF-Antigen kann im Referenzbereich liegen oder sogar leicht erhöht sein. Typischerweise ist die Kollagenbindungsfähigkeit (CBA) eingeschränkt, sodass der Quotient vWF-Ag/CBA deutlich erhöht ist. Die APTT (aktivierte partielle Thromboplastinzeit) und die Thromboplastinzeit können verlängert sein. Häufig ist dies auf einen zusätzlich bestehenden Vitamin-K-Mangel zurückzuführen.

Eine weitere Ursache für eine verlängerte APTT ist eine erniedrigte FVIII-Aktivität. Das Fibrinogen ist meist als Zeichen der Akute-Phase-Reaktion und der D-Dimer-Wert als Zeichen einer allgemein gesteigerten Gerinnungsaktivierung erhöht.

Vor Durchführung einer Nierenbiopsie werden eine Bestimmung der Thrombozytenzahl und die Globaltests empfohlen. Eine Bestimmung der Blutungszeit wird nicht generell empfohlen, da dieses Verfahren mögliche Blutungskomplikationen nicht mit der notwendigen Spezifität voraussagen kann.

Von der urämischen Gerinnungsstörung werden die mikroangiopathischen Erkrankungen TTP (thrombotisch-thrombozytopenische Purpura) und HUS (hämolytisch-urämisches Syndrom) abgegrenzt (▶ Kap. 34.1). Differenzialdiagnostisch entscheidend sind in diesen Fällen zusätzlich zu der Nierenfunktionsstörung die DAT-negative (DAT = direkter Antiglobulintest) hämolytische Anämie, die schwere Thrombozytopenie und das schwere Krankheitsbild.

### Therapie

Leichte und mittelschwere Blutungen können durch die Gabe von DDAVP in einer Dosierung von 0,3 µg/kgKG gut beherrscht werden. Der antidiuretische Effekt von DDAVP ist in der terminalen Niereninsuffizienz von untergeordneter Bedeutung und sollte nicht dazu führen, dass diese Therapieoption nicht ergriffen wird. Eine Kombination der DDAVP-Gabe mit der Gabe des Antifibrinolytikums Tranexamsäure in einer Dosierung von 3-mal 1 g/Tag wird empfohlen.

**! Zur Therapie von schweren Blutungen und zur Vorbereitung von größeren operativen Eingriffen ist die DDAVP-Gabe nicht ausreichend. Wegen der meist nur geringen Volumentoleranz ist eine Substitution mit Plasma nur begrenzt möglich. Deswegen sind Faktorenkonzentrate wie PPSB und Fibrinogen in dieser Indikation Mittel der ersten Wahl.**

Transfusionstrigger für die PPSB-Gabe ist ein Quick-Wert <50% und für die Gabe von Fibrinogen ein Wert von 100 mg/dl. Die Gabe von Thrombozytenkonzentraten wird bei Werten <100.000/µl empfohlen. Bei bedrohlichen Blutungen ist die Bolusgabe von rFVIIa in Kombination mit Thrombozyten indiziert.

Meist kommt es nach Beginn der Dialyse schnell zu einer Verbesserung der Hämostasefunktion (Vincent u. Piagnerelli 2008). Deswegen ist auch bei bedrohlichen Blutungen die Einleitung einer Hämofiltration oder einer Dialyse anzustreben. Die Antikoagulanzienwahl während der Dialyse ist im Wesentlichen von patientenspezifischen Faktoren abhängig.

Das Standardantikoagulans ist unfraktioniertes Heparin. Bei Patienten mit heparininduzierter Thrombozytopenie und anderen Heparinunverträglichkeiten wurden Protokolle mit alternativen Antikoagulanzien wie Hirudin und Argatroban entwickelt (◘ Tab. 30.28) Eine weitere Alternative stellt die Zitratantikoagulation dar. Da hier die systemische antikoagulatorische »Belastung« des Patienten sehr gering ist, ist dieses Verfahren besonders gut zur Behandlung von Patienten mit zusätzlichen Gerinnungsstörungen geeignet, z. B. bei schweren Thrombozytopenien.

Ein vollständiger Verzicht auf eine Antikoagulation sollte möglichst vermieden werden, da eine Dialyse oder Hämofiltration ohne Antikoagulation zu einer erheblichen Gerinnungsaktivierung führt. Eine Ausnahme sind bedrohliche Blutungen, hier kann in der Anfangsphase meist eine Antikoagulation nicht durchgeführt werden.

**Tab. 30.28.** Dosierungsschemata für alternative Antikoagulanzien zur Hämofiltration und -dialyse

| Medikament | Hämofiltration | Hämodialyse | Kontrolle |
|---|---|---|---|
| Argatroban | Bolus: entfällt | Bolus: 250 µg/kgKG | APTT: 2-fach |
| | Kontinuierliche Infusion: 0,5 µg/kgKG/min | Kontinuierliche Infusion: 0,5 µg/kgKG/min | APTT: 2-fach |
| Hirudin | Bolus: entfällt | Bolus: 0,1 mg/kgKG | APTT: 2-fach |
| | Kontinuierliche Infusion: 0,005 mg/kgKG/h | Kontinuierliche Infusion: entfällt | |

*ACT* »activated clotting-time«; *APTT* aktivierte partielle Thromboplastinzeit



Bestehen vor einer Nierenbiopsie Blutungssymptome oder ist laboranalytisch eine urämische Blutungsneigung erkennbar, ist von einem erhöhten Blutungsrisiko auszugehen. Ist die Gerinnungsstörung mild, kann die Gabe von DDAVP ausreichend sein. Bei Thrombozytenzahlen unter 50.000/µl sollte eine Thrombozytensubstitution erfolgen. Bei Thrombozytenzahlen zwischen 50.000/µl und 100.000/µl ist die Entscheidung zur Thrombozytensubstitution von der Gefährdung des Patienten abhängig.

### Shunt-Thrombosen

Lokale Entzündungen oder anatomisch bedingte Flussstörungen sind die häufigste Ursache für eine Shunt-Thrombose. Aus diesem Grund wird bei einer Shunt-Thrombose, die den Shunt zur Dialyse unbrauchbar macht, meist eine Neuanlage des Shunts angestrebt. Alternativ kann durch die Instillation eines Fibrinolytikums, wie z. B. rt-PA in einer Dosierung von 1 mg/ml Instillationslösung, eine Wiedereröffnung des Shunts versucht werden.

Bei rezidivierend auftretenden Shunt-Thrombosen kann ein Prophylaxeversuch durch die Gabe eines Thrombozytenaggregationshemmers versucht werden. Thrombophile Risikofaktoren wie die FV-Leiden-Mutation oder die Prothrombinmutation sind meist nicht ursächlich für das Auftreten einer Shunt-Thrombose.

## 30.9.3 Leukämische Gerinnungsstörungen

### Pathophysiologie

Der Anteil an Tumorzellen, die in direktem Kontakt mit dem strömenden Blut stehen, ist bei leukämischen Erkrankungen besonders hoch. Dementsprechend können Tumorzellen, die gerinnungsaktive Substanzen exprimieren, auch zu pathophysiologischen Veränderungen führen. Beispielsweise kann durch die Expression von funktionell aktivem Tissue Factor eine tumorassoziierte disseminierte intravasale Gerinnung ausgelöst werden (Nadir et al. 2005). Eine Überexpression von Plasminogenaktivatoren kann zu einer Hyperfibrinolyse führen, wie sie z. B. bei der Monozytenleukämie auftreten kann (Uchiumi et al. 2007).

**! Durch ein infiltratives Wachstum im Knochenmark beeinträchtigen leukämische Erkrankungen die Hämatopoese. Die daraus resultierende Thrombozytopenie ist eine wichtige Ursache der leukämischen Blutungsneigung.**

Gerinnungsstörungen, die mit dem Auftreten von anderen hämatologischen Neoplasien wie der Polycythaemia vera, der essenziellen Thrombozythämie und dem multiplen Myelom verbunden sind, werden in ▶ Kap. 34.4 beschrieben.

### Klinik

Das führende Symptom der leukämischen Gerinnungsstörung ist die Blutung. Es können alle Formen von Blutungen auftreten. Die häufigsten Blutungssymptome sind Haut- und Schleimhautblutungen. Spontane intrakranielle Blutungen stellen ebenfalls ein typisches klinisches Symptom der leukämischen Gerinnungsstörung dar. Das Risiko für eine spontane Blutung ist besonders hoch bei Patienten mit hohem Fieber, bei einer starken leukämischen Belastung, einer sehr ausgeprägten Thrombozytopenie und bei Patienten mit weiteren Grunderkrankungen.

### Diagnostik und Therapie

Die Bestimmung der Thrombozytenzahlen ist der wichtigste diagnostische Parameter. Eine Thrombozytenzahl unter 10.000/µl ist ein allgemein akzeptierter Transfusionstrigger für eine prophylaktische Thrombozytengabe. Bei Auftreten von Fieber wird bereits ab Thrombozytenzahlen <20.000/µl transfundiert.

Plasmatische Gerinnungsstörungen werden durch die Globaltests einschließlich der FXIII-Aktivität erkannt und entsprechend therapiert.

Bei Verdacht auf eine leukämieassoziierte Hyperfibrinolyse erfolgt die Gabe von Tranexamsäure in einer Dosierung von 3-mal 1 g oral oder intravenös in einer Dosierung

von 50 mg/kgKG pro Stunde (Koseki et al. 2007). Zur Diagnostik der Hyperfibrinolyse siehe ▶ Kap. 30.7.

### 30.9.4 Gerinnungsstörungen durch solide Tumoren

#### Pathophysiologie

Viele solide Tumoren intergrieren in die Tumormatrix oder das Tumorstroma Fibrin. Um die Fibrinbildung zu induzieren, überexprimieren sie prokoagulatorische Gerinnungsfaktoren, wie z. B. Tissue Factor, oder andere Proteasen, die als sogenanntes Tumorprokoagulans das Gerinnungssystem aktivieren können (Bluff et al. 2008). Systemisch kann diese prokoagulatorische Gerinnungsaktivierung zu einer verstärkten Thromboseneigung führen, die bei verschiedenen Tumoren wie dem Bronchialkarzinom oder dem Pankreaskarzinom so ausgeprägt sein kann, dass Thrombosen trotz einer antikoagulatorischen Therapie auftreten können.

Selten ist die prokoagulatorische Gerinnungsaktivierung solider Tumoren so hoch, dass daraus eine disseminierte intravasale Gerinnung resultiert. Derartige Verläufe sind für klein- und großzellige Bronchialkarzinome sowie für das Siegelringkarzinom des Magens beschrieben.

Tumoren der Prostata und Karzinome des weiblichen Genitaltrakts wie das Endometriumkarzinom exprimieren in hoher Konzentration Plasminogenaktivatoren. Wahrscheinlich spielen diese Plasminogenaktivatoren für die Metastasierung dieser Tumore eine wichtige Rolle. Die tumorassoziierte Aktivierung des fibrinolytischen Systems manifestiert sich in einer gesteigerten Blutungsneigung.

#### Klinik

> **! Am häufigsten manifestiert sich die malignomassoziierte Gerinnungsstörung in Form von venösen Thrombosen.**

Eine Auswertung eines amerikanischen Tumorregisters, in das mehr als 200.000 Patienten eingeschlossen wurden, zeigte, dass innerhalb von 2 Jahren nach der Diagnosestellung bei 1,6% der Patienten Thrombosen auftraten. Besonders häufig kam es zu Thrombosen bei Patienten mit metastasierten Pankreaskarzinomen (Chew et al. 2006). Es folgten Patienten mit Kolonkarzinomen, Blasenkarzinomen, Nierentumoren und Bronchialkarzinonem.

Selten sind solide Tumoren Ursache einer systemischen Blutungsneigung. Die Blutungsneigung manifestiert sich in Form von petechialen Blutungen, Schleimhautblutungen und lang anhaltenden Blutungen nach Verletzungen und Punktionen. Schwere und bedrohliche Blutungskomplikationen, wie z. B. intrakranielle Blutungen, können auftreten, sind aber eher selten.

Bei Patienten mit einer tumorassoziierten DIC steht die ausgeprägte Blutungsneigung im Vordergrund. In diesen Fällen werden großflächige Hautblutungen, Schleimhautblutungen und auch ausgedehnte Weichteileinblutungen beobachtet. Zur Organdysfunktion führende thrombotische Verschlüsse der Mikrozirkulation können auftreten, sind aber im Vergleich zur infektassoziierten DIC seltener.

#### Diagnostik

Durch Bestimmung der Thrombozytenzahlen kann eine Thrombozytopenie erkannt werden. Die Globaltests geben einen möglichen Hinweis auf eine plasmatische Gerinnungsstörung. Erniedrigte Fibrinogenwerte bei gleichzeitig erhöhten D-Dimer-Werten und erniedrigten Plasminogenaktivitäts- und $\alpha_2$-Antiplasminwerten sind diagnostisch hinweisend auf das Vorliegen einer Hyperfibrinolyse.

Kam es unter einer Antikoagulanzientherapie im angestrebten therapeutischen Bereich zu einer Rezidivthrombose, kann die Bestimmung des D-Dimers einen Hinweis auf die Effektivität der antikoagulatorischen Therapie geben. Solange die D-Dimer-Werte signifikant erhöht sind, ist die antikoagulatorische Therapie nicht ausreichend.

#### Therapie

Bei Patienten mit aktiven soliden Tumoren besteht ein erhöhtes Thromboserisiko. Deswegen könnten diese Patienten in Abhängigkeit von der Tumorentität, der Tumorausdehnung und dem Metastasierungsgrad von einer medikamentösen Thromboseprophylaxe profitieren. Im klinischen Alltag ist dieses Vorgehen auf die stationäre Behandlungsphase beschränkt. Üblicherweise werden niedermolekulare Heparine eingesetzt. Auch unter einer Chemotherapie erfolgt eine Thromboseprophylaxe, die bei Thrombozytenzahlen <20.000/μl unterbrochen wird.

> **! Verschiedene in der Tumorbehandlung eingesetzte Medikamente wie Thalidomid und Thalidomidanaloga, VEGF-Inhibitoren und Tamoxifen sowie Asparaginase erhöhen zusätzlich das Thromboserisiko.**

Eine medikamentöse Thromboseprophylaxe wird dennoch nicht grundsätzlich durchgeführt.

Nach einer venösen Thrombose wird bei Patienten die Sekundärprophylaxe mit Antikoagulanzien verlängert, wenn die Tumorerkrankung weiterhin aktiv ist oder zusätzliche Risikofaktoren für eine Rethrombose bestehen. Tritt die Rezidivthrombose unter einer im therapeutischen Bereich liegenden Antikoagulanzienbehandlung auf, besteht möglicherweise eine Indikation für eine höhere Antikoagulanzienintensität. Dies kann durch eine erhöhte Dosierung oder durch die Kombination von verschiedenen Antikoagulanzien erreicht werden.

Die Behandlung von Blutungskomplikationen orientiert sich an dem Schweregrad der Blutung und der auslö-

senden Ursache. Kommt es als Folge einer Thrombozytopenie zu einer Blutung, ist die Thrombozytentransfusion Mittel der Wahl. Eine Hyperfibrinolyseblutung wird durch die Gabe von Tranexamsäure und durch eine begleitende Gabe von Frischplasma behandelt.

### Literatur


Agarwal S, Senzolo M, Melikian C et al. (2008) The prevalence of a heparin-like effect shown on the thrombelastograph in patients undergoing liver transplantation. Liver Transpl 14: 855–860

Blonski W, Siropaides T, Reddy KR (2007) Coagulopathy in liver disease. Curr Treat Options Gastroenterol 10: 464–473

Bluff JE, Brown NJ, Reed MW et al. (2008) Tissue factor, angiogenesis and tumor progression. Breast Cancer Res 204. Epub 2008 Mar 17

Caldwell SH, Hoffman M, Lisman T et al. (2006) Coagulation disorders and haemostasis in liver disease: pathophysiology and critical assessment of current management. Hepatology 44: 1039–1046

Chew HK, Wun T, Harvey D et al. (2006) Incidence of venous thromboembolism and its effect on survival among patients with common cancers. Arch Intern Med 166: 458–464

Ferguson JW, Helmy A, Ludlam C et al. (2008) Hyperfibrinolysis in alcoholic cirrhosis: relative plasminogen activator inhibitor type 1 deficiency. Thromb Res 121: 675–680

Ho SJ, Gemmell R, Brighton TA (2008) Platelet function testing in uraemic patients. Hematology 13: 49–58

Kang Y (1997) Coagulation and liver transplantation: current concepts. Liver Transpl Surg 3: 465–467

Koseki M, Asada N, Uryu H et al. (2007) Successful combined use of tranexamic acid and unfractionated heparin for life-threatening bleeding associated with intravascular coagulation in a patient with chronic myelogenous leukemia in blast crisis. Int J Hematol 86: 403–406

Lisman T, Leebeek FW (2007) Hemostatic alterations in liver disease: a review on pathophysiology, clinical consequences, and treatment. Dig Surg 24: 250–258

Molenaar IQ, Warnaar N, Groen H et al. (2007) Efficacy and safety of antifibrinolytic drugs in liver transplantation: a systematic review and meta-analysis. American Journal of Transplantation 7: 185–194

Molino D, De Lucia D, Gaspare de Santo N (2006) Coagulation disorders in uremia. Semin Nephrol 26: 46–51

Nadir Y, Katz T, Sarig G et al. (2005) Hemostatic balance on the surface of leukemic cells: the role of tissue factor and urokinase plasminogen activator receptor. Haematologica 90: 1549–1556

Schmidt KG, Rasmussen J, Bekker C et al. (1985) Kinetics and in vitro distribution of indium-III-labeled autologous platelets in chronic hepatic disease: mechanisms of thrombocytopenia. Scand J Haematol 34: 39

Senzolo M, Burra P, Cholongitas E et al. (2006) New insights into the coagulopathy of liver disease and liver transplantation. World J Gastroenterol 12: 7725–7736

Thachil J (2008) Relevance of clotting tests in liver disease. Postgrad Med J 84: 177–181

Uchiumi H, Matsushima T, Yamane A et al. (2007) Prevalence and clinical characteristics of acute myeloid leukemia associated with disseminated intravascular coagulation. Int J Hematol 86: 137–142

Vincent JL, Piagnerrelli M (2008) Acute renal failure in the intensive care unit: which technique of renal replacement therapy? Rev Med Brux 29: S9–13

Zuckerman GR, Cornette GL, Clouse RE, Harter HR (1985) Upper gastrointestinal bleeding in patients with chronic renal failure. Ann Intern Med 102: 588–92




## 30.10 Verlust- und Dilutionskoagulopathie

*M. Spannagl*



### Einleitung

Verlust- und Dilutionskoagulopathie sind Gerinnungsstörungen, die bei einem massiven Blutverlust auftreten können. Zunächst kommt es zu einem Verlust an plasmatischen und zellulären Hämostasekomponenten, der durch die Synthese- und Reservekapazitäten des Organismus nicht adäquat kompensiert werden kann. Hinzu kommt ein Verbrauch durch Trauma oder andere akute Erkrankungen.

Durch die Therapie mit Volumenersatzmitteln kann die Blutungsneigung verstärkt werden. Klinisch erschwert die aufgetretene Hämostasestörung die invasive Versorgung.

Diagnostisch beweisend sind neben dem Blutverlust und der klinischen Blutungsneigung erniedrigte Plasmakonzentrationen an Gerinnungsfaktoren und Thrombozyten. Eine ausreichende Korrektur der Hämostasestörung kann meist nur durch die schnelle Gabe von Erythrozytenkonzentraten, gefrorenem Frischplasma und ggf. Faktorenkonzentraten erreicht werden.

### Pathophysiologie

Übersteigt das Ausmaß einer akuten Blutung die Fähigkeit des Organismus, den damit verbundenen Verlust an Hämostasefaktoren durch Neusynthese und Mobilisierung von Reservekapazitäten zu kompensieren, können die physiologischen Plasmaspiegel von Gerinnungsfaktoren und

**Tab. 30.29.** Reihenfolge des Erreichens kritischer Konzentrationen von Gerinnungsfaktoren und Thrombozyten bei der akuten chirurgischen Blutung (Hiippala 1995)

| Reihenfolge | Parameter | Grenzwert | Blutverlust bezogen auf das Gesamtblutvolumen [%] (95% Konfidenzintervall) |
|---|---|---|---|
| 1 | Fibrinogen | 100 mg/dl | 142 (117–169) |
| 2 | Prothrombin | 20% | 201 (160–244) |
| 3 | Faktor V | 25% | 229 (167–300) |
| 4 | Faktor VII | 20% | 236 (198–277) |
| 5 | Thrombozyten | 50.000/µl | 230 (169–294) |

Thrombozyten nicht aufrecht erhalten werden. Eine Dilutionsanämie kann die primäre Hämostase beeinflussen (Valeri et al. 2003).

Klinische Untersuchungen haben gezeigt, dass bei einem starken Blutverlust die einzelnen Hämostasekomponenten mit unterschiedlicher Kinetik in ihrer Konzentration abnehmen (Hiippala et al. 1995). Wird bei massiver perioperativer Blutung der akute Blutverlust nur durch die Gabe von Erythrozytenkonzentraten und kolloidalen Volumenersatzmitteln ersetzt, unterschreitet die Fibrinogenkonzentration einen Wert von 1 g/l bei Verlust von etwa dem 1,5-fachen Blutvolumen (Tab. 30.29). Demgegenüber werden Thrombozytenwerte von 50.000/µl erst nach einem Verlust des 2,5-fachen Blutvolumens unterschritten. Dies ist wahrscheinlich eine Folge der relativ hohen Reservekapazität für Thrombozyten in Organen wie der Milz.

Aktuelle Übersichtsarbeiten bestätigen diese Befunde (Hardy et al. 2006; Kozek-Langenecker 2007). Unter Berücksichtigung dieser Erkrenntnisse werden die minimal erforderlichen Konzentrationen von Hämostasefaktoren – kalkuliert aus der klinischen Erfahrung mit angeborenen Faktorenmängel – für einen gleichzeitigen raschen Verlust aller Komponenten zu niedrig eingeschätzt.

Die Aufrechterhaltung der Kreislauffunktion erfordert bei einer massiven Blutung die schnellstmögliche Volumensubstitution. Die dazu eingesetzten kolloidalen und nichtkolloidalen Volumenersatzmittel führen durch Verdünnung zu einer weiteren Konzentrationsabnahme der Hämostasekomponenten. Dadurch kommt zu der Verlustkoagulopathie eine Dilutionskoagulopathie.

**! Dementsprechend ist das Ausmaß der Dilutionskoagulopathie in erster Linie von der Menge des verabreichten Volumenersatzmittels abhängig.**

Darüber hinaus können die Volumenersatzmittel in Abhängigkeit von ihrer chemischen Struktur selbst die Hämostase stören und dadurch die Blutungsneigung weiter verstärken (Levi u. Jong 2007).

Im In-vitro-Ansatz kann durch die Zugabe der kolloidalen Volumenersatzmittel Hydroxyethylstärke, Dextran und Gelatine eine Störung der vWF-Funktion und der Thrombozytenaggregation induziert werden (Tab. 30.30). Außerdem interferieren diese Substanzen mit der Fibrinpolymerisation (Fries 2002). Im Fall der Hydroxyethylstärke (HES) sind diese unerwünschten Wirkungen von der molekularen Größe abhängig. Besonders die hoch- und mittelmolekularen HES-Präparationen führen zu einer ausgeprägten vWF-Dsyfunktion, einer Störung der Thrombozytenfunktion und zu einer Hyperfibrinolyse (deJonge et al. 1998). Wie in Tab. 30.30 dargestellt, korreliert dies in vivo auch mit einer im Vergleich zur Albumingabe verstärkten Blutungsneigung. Ähnliche Effekte sind für Dextran und in geringem Ausmaß für Gelatine beschrieben (Levi u. Jong 2007).

Die Wirkung von kristalloiden Volumenersatzmitteln auf das Hämostasesystem ist abhängig von dem osmotischen Druck. Hypertone Volumenersatzmittel beeinträchtigen in vitro die Thrombozytenfunktion und induzieren eine Fibrinpolymerisationsstörung (Wilder et al. 2002). Isotone Volumenersatzmittel haben keinen Effekt auf das Hämostasesystem. Dabei werden auch gemischt kolloid- und kristalloidhaltige Präparate verwendet.

**! Als Folge des massiven Blutverlusts kann es zur Entwicklung eines hämorrhagischen Schocks kommen. Die daraus resultierende Minderperfusion der Leber und des Knochenmarks führen zu einer Synthesestörung, durch die die Gerinnungsstörung weiter verstärkt wird.**

Weitere Faktoren, die zu einer Verschlechterung der Hämostasesituation im Rahmen einer Verlust- und Dilutionskoagulopathie beitragen können, sind eine azidotische Stoffwechsellage und eine Hypothermie. Die pH-Wert-Verschiebung und die Temperaturabsenkung verlängern die Reaktionsgeschwindigkeit der enzymatischen Gerinnungsreaktionen und stören die Thrombozytenfunktion.

**Tab. 30.30.** In-vitro- und In-vivo-Effekte von Volumenersatzmitteln

| Volumenersatzmittel | In-vitro-Effekt | Klinische Wirkung* |
|---|---|---|
| HMW-HES | – FVIII-vWF-Dysfunktion<br>– Thrombozytenfunktionsstörung<br>– Hyperfibrinolyse<br>– Polymerisationstörung | – Erhöhte Blutungsneigung |
| MMW-/LMW-HES | – FVIII-vWF-Dysfunktion<br>– Fibrinpolymerisationsstörung | – Unklar; Blutungsgefahr (bei Dilution) |
| Dextran | – FVIII-vWF-Dysfunktion<br>– Hyperfibrinolyse | – Erhöhte Blutungsneigung |
| Gelatine | – Thrombozytenfunktionsstörung<br>– Polymerisationstörung | – Blutungsgefahr (bei Dilution) |
| Albumin | – keine | – Kein Effekt |
| Hypertone kristalloide Volumenersatzmittel | – Thrombozytenfunktionsstörungen<br>– Polymerisationsstörung | – Unklar |
| Isotone kristalloide Volumenersatzmittel | – Kein Effekt | – Kein Effekt |

*Im Vergleich zur Albumingabe (Referenzsubstanz); *HES* Hydroxyethylstärke; *HMW* »high molecular weight«, hochmolekular; *MMW* »medium molecular weight«, mittelmolekular; *LMW* »low molecular weight«, niedermolekular

## Klinik

Das klinische Bild ist zunächst durch die massive Blutung, die während eines operativen Eingriffs oder nach schweren Verletzungen auftritt, geprägt. Mit abnehmender Konzentration an Hämostasekomponenten kommt es zu einer symptomatischen Gerinnungsstörung. Im Operationsfeld und in den verletzten Gewebearealen treten zusätzlich diffuse, sogenannte mikrovaskuläre Blutungen auf. Diese Blutungen sind nicht auf die verletzten Gewebeareale beschränkt. Hierzu zählen:

- Blutungen aus Punktionsstellen,
- Blutungen nach geringer mechanischer Irritation, wie z. B. nach Intubation,
- Unterblutungen von Schleimhäuten und Blutungen aus Schleimhäuten wie den Konjunktiven,
- petechiale Blutungen.

Minimale Organverletzungen, die als Folge des Traumas auftreten, können durch die Gerinnungsstörung zu großen Blutungen werden.

Neben den mikrovaskulären Blutungen können auch spontane Blutungen auftreten. Besonders häufig finden sich Blutungen in die Lunge oder im Gastrointestinaltrakt.

## Diagnostik

Ziel der Labordiagnostik ist es, das Ausmaß der Gerinnungsstörung zu erfassen, das Hämostasemanagement zu steuern und in seiner Effektivität zu kontrollieren. Dazu müssen die eingesetzten Testverfahren einen hohen prädiktiven Wert für das Erkennen einer Blutungsneigung aufweisen und die kritische Hämostasekomponente differenzialdiagnostisch erkennen können. Gleichzeitig muss die Testlaufzeit möglichst kurz sein, damit entsprechend der klinischen Dringlichkeit die Untersuchungsergebnisse möglichst schnell zur Verfügung stehen.

Von keinem der zurzeit verfügbaren Testverfahren werden diese Anforderungen vollständig erfüllt. Deswegen beruht die Diagnostik auf der Kombination einiger Testparameter und deren Dynamik.

Beim Blutungsnotfall wurden patientennahe Systeme (POCT-Diagnostik) erfolgreich eingesetzt.

**Thrombozytenzahl.** Die Bestimmung der Thrombozytenzahl ist mit Blutbildautomaten in kürzester Zeit mit hoher Präzision möglich. Fallende Thrombozytenwerte unter 50.000–100.000/µl gelten als Diagnoseparamter für das Vorliegen einer Verlust- und Dilutionskoagulopathie und gelten beim Blutungsnotfall gleichzeitig als Transfusionstrigger (Brohi et al. 2007). Mit der Bestimmung der Thrombozytenzahl ist keine Aussage über die Funktionsfähigkeit der Thrombozyten möglich. Ausreichend schnell verfügbare Testverfahren zur Bestimmung der Thrombozytenfunktion stehen nicht zur Verfügung oder sind störanfällig. Beispielsweise wird die PFA-100-Analytik durch niedrige Hämatokritwerte und niedrige Thrombozytenwerte beeinträchtigt.

**Thrombelastographie.** Vollbluttests wie die Thrombelastographie haben den Vorteil, dass sie patientennah im Sinn einer Point-of-Care-Diagnostik eingesetzt werden können. Ein Nachteil der klassischen Thrombelastographie ist, dass

pathologische Veränderungen differenzialdiagnostisch nur schwierig zu interpretieren sind. Durch Einsatz unterschiedlicher Agonisten, wie z. B. APTT-Reagenz und Thromboplastin, wurde versucht, diese Nachteile auszugleichen. Zurzeit wird die Wertigkeit von Diagnosealgorithmen überprüft, die wesentlich auf der Thrombelastographie aufbauen (Fries et al. 2006; Kozek-Langenecker 2007).

**Thromboplastinzeit und aktivierte partielle Thromboplastinzeit.** Die Abnahme von plasmatischen Gerinnungsfaktoren und Fibrinogen beeinflusst die Globaltests APTT und Quick-Wert. Eine verstärkte Blutungsneigung besteht bei Unterschreiten der in Tab. 30.31 aufgeführten Grenzwerte. Ein Vorteil beider Parameter ist, dass sie in allen Krankenhäusern verfügbar sind und zur Verlaufsbeurteilung kurzfristig herangezogen werden können.

**Fibrinogenbestimmung.** Der Fibrinogenwert ist ein wichtiger Parameter zum Nachweis einer Verlust- und Dilutionskoagulopathie sowie zur Beurteilung des Schweregrads einer Gerinnungsstörung. Die zur Fibrinogenbestimmung eingesetzten funktionellen Verfahren ermöglichen eine schnelle Bestimmung des Fibrinogens mit hoher Präzision. Kolloidale Volumenersatzmittel können die funktionelle Fibrinogenbestimmung beeinflussen. Hiippala (1995) zeigte, dass Dextran und hochmolekulare Hydroxyethylstärke konzentrationsabhängig zu falsch-hohen Fibrinogenwerten führen (Tab. 30.32; Hipippala 1995). Dies muss in der Interpretation der Fibrinogenwerte berücksichtigt werden.

**Tab. 30.31.** Laborkonstellation der Verlust- und Dilutionskoagulopathie

| Parameter | Kritischer Wert |
|---|---|
| Thromboplastinzeit (Quick-Wert) | <40% |
| Fibrinogen | <100 mg/dl |
| Aktivierte partielle Thromboplastinzeit | >1,5-fach verlängert |
| Thrombozytenzahl | <50.000–100.000/µl |
| Thrombelastogramm | r-Zeit >80 s<br>max. Amplitude <50 mm |

### Therapie

Therapeutisches Ziel ist der Aufbau eines suffizienten Hämostasepotenzials. Dies wird durch die Substitution von Erythrozytenkonzentraten, Frischplasma und Faktorenkonzentraten erreicht.

In Tab. 30.33 sind Transfussionstrigger und die zu verabreichenden Medikamente zusammengefasst. Im Einzelfall sind entsprechende Anpassungen erforderlich. So kann auch bei Unterschreiten von Thrombozytenwerten von 100.000/µl auf die Gabe von Thrombozyten verzichtet werden, wenn eine Gefäßverletzung als Blutungsquelle chirurgisch schnell und sicher versorgt werden kann. Umgekehrt kann auch die Gabe von Thrombozyten notwendig werden, wenn die Thrombozytenzahlen über 100.000/µl liegen, aber eine Thrombopathie vorliegt.

Frischplasma enthält die plasmatischen Hämostasekomponenten in nahezu physiologischer Konzentration. Bei einem starken Blutverlust sollte es theoretisch als Medikament der ersten Wahl angesehen werden.

**! Praktisch kann im Fall einer schweren Verlust- und Dilutionskoagulopathie durch die alleinige FFP-Gabe nicht der erforderliche Anstieg der Plasmafaktoren insbesondere des Fibrinogens erreicht werden (Singbartl et al. 2003). Deswegen wird die Gabe von Faktorenkonzentraten (Fibrinogen-, PPSB-Konzentrat) empfohlen (Tab. 30.33).**

**Tab. 30.32.** Einfluss von Dextran und HES auf die Fibrinogenbestimmung im Plasma. Dargestellt sind die relativen Abweichungern bezogen auf das Ausgangsplasma, in Klammern ist die prozentuale Abweichung bezogen auf den theoretisch zu verwartenden Wert angegeben. (Nach Hipippala et al 1995)

| Anteil an Volumenersatzmittel [%] | Messsystem | Physiologische Kochsalzlösung | Dextran 70 | HES 120 | HES 200 |
|---|---|---|---|---|---|
| 20 | Funktionell | 0,81 (+1,3%) | 0,93 (+16,0%) | 0,93 (+16,0%) | 0,92 (+15,0%) |
| | Clauss | 0,79 (-1,3%) | 0,90 (+12,5%) | 0,86 (+7,5%) | 0,86 (+7,5%) |
| 40 | Funktionell | 0,64 (+6,7%) | 0,76 (+26,0%) | 0,73 (+21,7%) | 0,73 (+21,6%) |
| | Clauss | 0,62 (+3,3%) | 0,76 (+26,0%) | 0,69 (+14,8%) | 0,70 (+16,7%) |
| 60 | Funktionell | 0,43 (+7,5%) | 0,51 (+27,5%) | 0,52 (+30,0%) | 0,52 (+30,0%) |
| | Clauss | 0,41 (+2,5%) | 0,54 (+35,0%) | 0,49 (+22,5%) | 0,47 (+17,5%) |

Funktionelle Bestimmung mit eine Thrombinreagenz und anschließender Trübungsmessung

**Tab. 30.33.** Laborkonstellation der Verlust- und Dilutionskoagulopathie

| Parameter | Transfusionstrigger | Präparat |
|---|---|---|
| Fibrinogen | <100 mg/dl | Fibrinogenkonzentrat (initial 3 g) |
| Thromboplastinzeit (Quick-Wert) | <40% | PPSB-Konzentrat (initial 25 IE/kgKG) |
| Aktivierte partielle Thromboplastinzeit | >1,5-fach verlängert | FFP (initial mindestens 4 Einheiten) |
| Thrombozytenzahl | <50.000–100.000/µl | Thrombozytenkonzentrate (initial mind. 2 TK) |

Die Substitutionstherapie sollte so lange fortgesetzt werden, bis eine ausreichende Blutstillung erreicht ist. Die Dosierung orientiert sich an der Klinik und den Hämostaseparametern. Der Nutzen einer begleitenden antifibrinolytischen Therapie ist in einzelnen Fällen gezeigt worden (▶ Kap. 58). Führen diese Maßnahmen nicht zum Ziel, kann in Einzelfällen durch die Gabe von aktiviertem Faktor VII eine Blutstillung versucht werden.



## Prophylaxe

Bei operativen Eingriffen, die mit einem hohen Blutverlust einhergehen, ist die Prophylaxe einer Verlust- und Dilutionskoagulopathie ein elementarer Bestandteil des Hämostase- und Transfusionsmanagements. Besonders gut geeignet ist eine frühzeitige Substitution mit Frischplasma. Im klinischen Alltag hat sich dazu eine feste Kopplung zwischen der Anzahl an transfundierten Erythrozyten und der Gabe von Frischplasma bewährt. Bei schweren akuten Blutungen bzw. bei absehbar starkem Blutverlust sollte die Gabe von EK und FFP im Verhältnis 1:1 angestrebt werden.

## Literatur


Brohi K, Cohen MJ, Davenport RA (2007) Acute coagulopathy of trauma: mechanism, identification and effect. Current Opinion in Critical Care 13: 680–685

deJonge E, Levi M, Berends F (1998) Impaired haemostasis by intravenous administration of a gelatin-based plasma expander in human subjects. Thromb Haemost 79: 286–290

Fries D, Streif W, Klingler A et al. (2006) The effect of fibrinogen substitution reversal of dilutional coagulopathy: a case report serial and an in-vitro model. Anesth Analg 102: 347–51

Fries D, Innerhofer P, Klingler A, Berresheim U, Mittermayr M, Calatzis A, Schobersberger W (2002) The effect of the combined administration of colloids and lactated Ringer's solution on the coagulation system: an in vitro study using thrombelastograph coagulation analysis (ROTEG). Anesth Analg 94(5): 1280–7

Hardy JF, de Moerloose P, Samama CM (2006) Massive transfusion and coagulopathy: pathophysiology and implications for clinical management. Can J Anaesth 53: S40–58

Hiippala ST (1995) Dextran and hydroxyethyl starch interfere with fibrinogen assays. Blood Coagulation and Fibrinolysis 6: 743–746.

Hiippala ST, Myllylä GJ, Vahtera EM (1995) Hemostatic factors and replacement of major blood loss with plasma poor red cell concentrates. Anesth Analg 81: 360–365

Kozek-Langenecker SA (2005) Effects of hydroxyethyl starch solutions on hemostasis. Anesthesiol 103: 654–660

Kozek-Langenecker S (2007) Management of massive operative blood loss. Minerva Anesthesiol 73: 1–15

Levy J (2006) Massive transfusion coagulopathy. Semin Hematol 43: S59–S63

Levi M, de Jonge E (2007) Clinical relevance of the effects of plasma expanders on coagulation. Semin Thromb Hemost 33: 810–815

Petroianu GA, Maleck WH, Koettner KP et al. (2003) Effect of in vitro hemodilution with hydroxyethyl-starch and dextrans on the activity of plasma clotting factors. Crit Care Med 31: 250–254

Ruttmann TG, James MFM, Aronson I (1998) In vivo investigation into the effects of heamodilution with hydroxyethyl starch (200/0.5) and normal saline on coagulation. Brit J Anaesth 80: 612–616

Singbartl K, Innerhofer P, Radvan J et al. (2003) Hemostasis and hemodilution – quantitative-methematical guide for clinical practice. Anesth Analg 96: 929–935

Valeri CR, Cassidy G, Pivacek LE et al. (2001) Anemia induced increase in bleeding time: the implication for treatment of nonsurgical blood loss. Transfusion 41: 977–983

Wilder DM, Reid TJ, Bakaltcheva IB (2002) Hypertonic resuscitation and blood coagulation. Thromb Res 107: 255–261

## 30.11 Medikamenteninduzierte und artifizielle Blutungen

*B. Pötzsch, K. Madlener*



### Einleitung

Die Erhöhung des Blutungsrisikos ist eine Nebenwirkung von verschiedenen Medikamenten und Medikamentengruppen. Entsprechend der Pharmakodynamik der eingesetzten Medikamente sind Blutungskomplikationen die häufigste Nebenwirkung von Antikoagulanzien, Thrombozytenfunktionshemmern und Fibrinolytika. Besonders häufig kommt es zu bedrohlichen Blutungen während einer fibrinolytischen Therapie. Hier werden Häufigkeiten bis zu 5% angegeben. Eine Behandlung mit Vitamin-K-Antagonisten mit einem INR-Zielbereich (INR=«international normalized ratio«) von 2–3 erhöht das jährliche Risiko für therapiepflichtige Blutungen um 0,3–0,5%. Die zur Sekundärprophylaxe von arteriellen Thromboembolien eingesetzten Thrombozytenfunktionshemmer induzieren bei 2–3% der Patienten während eines Behandlungszeitraums von einem Jahr eine therapiepflichtige Blutung.

Nach einer Blutung sollte in die Entscheidungsfindung zur Fortführung der antithrombotischen Therapie eine Analyse der blutungsauslösenden Ursachen einbezogen werden, um ggf. durch eine Dosisreduktion oder ein verbessertes Monitoring das Risiko für eine erneute Blutung zu senken.

In seltenen Fällen werden Antithrombotika und v. a. Vitamin-K-Antagonisten von Patienten missbräuchlich benutzt, um ein Blutungsereignis zu provozieren. Dieses Vorgehen ist Symptom einer schweren Persönlichkeitsstörung und sollte primär nicht hämostaseologisch, sondern psychotherapeutisch behandelt werden. Die hämostaseologischen Maßnahmen beschränken sich auf die Diagnosestellung und die Therapie von Blutungen. In einzelnen Fallberichten wurden Blutungen beschrieben, die spontan auftraten und meist religiöse Symbole imitierten, z. B. die Kreuzigungsmale von Jesus Christus. Solche Blutungen sind extrem selten und mit objektivierbaren diagnostischen Kriterien nicht zu verifizieren.

### 30.11.1 Medikamenteninduzierte Blutungen

Verschiedene Medikamente haben eine direkte oder indirekte Wirkung auf das Hämostasesystem. Deswegen ist die Blutung nicht nur eine Nebenwirkung von Antithrombotika, wo sie entsprechend dem Wirkmechanismus zu erwarten sind, sondern auch eine Nebenwirkung von verschiedenen anderen Medikamenten. Dazu zählen kolloidale Volumenersatzmittel (▶ Kap. 30.10), das Antiepileptikum Valproinsäure (▶ Kap. 30.6), Antibiotika, Antiphlogistika wie Ibuprofen, Lokalanästhetika und zytoreduktiv wirkende Chemotherapeutika.

Die Häufigkeit von Blutungskomplikationen ist von der therapeutischen Breite des Antithrombotikums, der Art und Dauer der Anwendung sowie von patientenspezifischen Faktoren abhängig. Zu letzteren zählen v. a. das Alter und die Komorbidität.

#### Vitamin-K-Antagonisten

Eine Behandlung mit Vitamin-K-Antagonisten mit einem INR-Zielbereich von 2–3 erhöht das jährliche Risiko, eine therapiepflichtige Blutung zu entwickeln, um 0,3–0,5% und das Risiko zur Entwicklung einer intrazerebralen Blutung um 0,2% (Schulman 2008). Diese Zahlen, die auf einer Analyse verschiedenster klinischer Studien beruhen, sind schwierig zu interpretieren, da sie eine Kenntnis des basalen Blutungsrisikos in einem dem Patientenkollektiv entsprechenden Kontrollkollektiv voraussetzen.

Ältere Zahlen gehen von einem jährlichen Risiko für das Auftreten von therapiepflichtigen Blutungen unter einer oralen Antikoagulation mit Vitamin-K-Antagonisten von 2–5% aus (Wells et al. 2003; Kearon et al. 1999). Dies entspricht etwa 1,35 schwerwiegenden Blutungen und 0,4 intrazerebralen Blutungen auf 100 Behandlungsjahren (Palaretti et al. 1996). Da diese Zahlen an Patientenkollektiven unter Studienbedingungen erhoben wurden, dürfte davon auszugehen sein, dass die Ereignishäufigkeit in der Routi-

netherapie etwas höher liegt. Variablen, die das Blutungsrisiko erhöhen, sind:
- höheres Lebensalter,
- ein vorausgegangenes Blutungsereignis,
- weibliches Geschlecht,
- geringere Compliance beispielsweise aufgrund einer Demenz oder einer Drogenabhängigkeit,
- Diabetes mellitus,
- die gleichzeitige Einnahme von thrombozytenfunktionshemmenden Medikamenten.

Basierend auf den Risikofaktoren Alter >65 Jahre, gastrointestinale Blutung oder Hirninfarkt in der Vorgeschichte und dem Vorliegen von 4 zuvor definierten Begleiterkrankungen wie einem Hypertonus wurde ein Modell zur Beurteilung der Blutungswahrscheinlichkeit entwickelt (Beyth et al. 1998). In einem 48 Monate umfassenden Beobachtungszeitraum traten bei 53% der Patienten, die zuvor der Hochrisikogruppe mit mindestens 3 Risikofaktoren zugerechnet wurden, Blutungen auf. Von den Patienten mit einem oder zwei Risikofaktoren entwickelten 12% eine Blutung. Bei Patienten mit keinem Risikofaktor lag die Rate unter 3%.



Ein anderes Modell zur Risikobewertung berücksichtigt das Patientenalter, das Geschlecht und das Vorliegen einer malignen Grunderkrankung. Mit diesem Risikomodell wurden 26.345 Patienten in Gruppen mit einem leicht erhöhten, einem erhöhten und einem sehr hohen Risiko unterteilt (Shireman 2006). Die Häufigkeit von Blutungen in diesen 3 Gruppen war mit zunehmenden Risikograd 0,9%, 2% und 5,4%.

Die Einstufung in eine Hochrisikogruppe bedeutet nicht, dass die Patienten von einer Therapie mit Vitamin-K-Antagonisten ausgeschlossen werden sollten. Meist profitieren gerade diese Patienten von einer kontinuierlichen Antikoagulation. Um das Blutungsrisiko zu minimieren, sollten Risikofaktoren behandelt werden und ein engmaschiges Monitoring erfolgen.

**! Das Risiko, eine Blutung unter Vitamin-K-Antagonisten zu entwickeln, ist unmittelbar abhängig vom INR-Wert. Ab einem INR-Bereich >4 steigt das Blutungsrisiko signifikant an (The European Atrial Fibrillation Trial Study Group 1995).**

In einer Fall-Kontroll-Studie konnte gezeigt werden, dass das Risiko für eine intrazerebrale Blutung sich mit jedem Anstieg des INR-Werts um 1 verdoppelt (Hylek u. Singer 1994).

### Heparine

Gemäß einer klinischen Studie liegt das Risiko einer schwerwiegenden Blutung unter einer APTT-adjustierten Therapie mit unfraktioniertem Heparin zwischen 1 und 10% (Schulmann 2008). Im klinischen Alltag dürfte ein Wert von etwa 5–10% für therapiepflichtige Blutungen realistisch sein. Das Blutungsrisiko ist wesentlich abhängig von der Grunderkrankung und der Komorbidität.

In den Therapiestudien zur Behandlung der tiefen Beinvenenthrombose und der Lungenembolie mit niedermolekularen Heparinen und Fondaparinux traten therapiepflichtige Blutungen mit einer Häufigkeit von 1–2% auf (Schulmann 2008). Das Blutungsrisiko von niedermolekularen Heparinen ist nicht höher als das von unfraktioniertem Heparin.

Auch in der prophylaktischen Dosierung erhöhen niedermolekulare Heparine und Fondaparinux das Blutungsrisiko. Die Häufigkeit von Blutungskomplikationen durch Fondaparinux in prophylaktischer Dosierung von 2,5 mg wurde in einer placebokontrollierten Studie untersucht (Eriksson u. Lassen 2003). Die Häufigkeit von therapiepflichtigen Blutungen betrug in der Fondaparinuxgruppe 2,4% verglichen mit 0,6% in der Placebogruppe.

### Thrombozytenfunktionshemmer

Das mit der Einnahme der Thrombozytenfunktionshemmer Aspirin und Clopidogrel zur Sekundärprophylaxe von arteriellen Thromboembolien verbundene Blutungsrisiko wurde als sekundärer Endpunkt in einer Reihe von Studien untersucht (Schulmann 2008). In einem Patientenkollektiv mit Vorhofflimmern, die entweder Vitamin-K-Antagonisten oder Aspirin und Clopidogrel zur Prophylaxe von kardioembolischen Ereignissen erhielten, lag die jährliche Rate von therapiepflichtigen Blutungen in der Aspirin-Clopidogrel-Gruppe bei 2,4% im Vergleich zu 2,2% in der Vitamin-K-Antagonisten-Gruppe (Connolly et al. 2006). Intrazerebrale Blutungen traten in der Clopidogrel-Aspirin-Gruppe mit einer jährlichen Häufigkeit von 0,1% auf, während in der Vitamin-K-Antagonisten-Gruppe 0,4% intrazerebrale Blutungen auftraten (p=0,036).

Bei einer Monotherapie mit Aspirin oder Clopidogrel dürften die Zahlen niedriger liegen. Dies bestätigt sich auch in klinischen Studien, in denen die Effektivität einer Aspiringabe zur Sekundärprophylaxe ischämischer Hirninfarkte untersucht wurde. Hier lag die jährliche Rate an therapiepflichtigen Blutungen bei 1,8% (Chimowitz et al. 2005).

Das Risiko, eine therapiepflichtige Blutung durch eine kurzfristige Therapie mit Glykoprotein-IIb-IIIa-Inhibitoren zu entwickeln, liegt je nach Studie zwischen 3 und 8% (Schulmann 2008). Da diese Patienten in der Regel mit mehreren Antithrombotika gleichzeitig behandelt werden, ist eine exakte Zuordnung des Blutungsrisikos zu dem Glykoprotein-IIb-IIIa-Antagonisten nicht möglich.

### Fibrinolytika und aktiviertes Protein C

Die Indikation zur Fibrinolysetherapie, das eingesetzte Fibrinolytikum und das gewählte Dosierungsregime beeinflussen die Häufigkeit von Blutungskomplikationen wäh-

rend einer Fibrinolysetherapie gleichermaßen wie die Komorbidität und das Lebensalter des Patienten.

**! Die schwerwiegenste Blutung während einer Fibrinolysetherapie ist die intrazerebrale Blutung.**

Eine Metaanalyse aus dem Jahr 1994 zeigt, dass im Vergleich zur Kontrollgruppe 4 von 1.000 Patienten eine intrazerebrale Blutung erlitten (Fibrinolytic Therapy Trialists 1994). Eine Metaanalyse zur Häufigkeit einer schwerwiegenden Blutungskomplikation während und unmittelbar nach einer fibrinolytischen Therapie des ischämischen Hirninfarkts mit rt-PA zeigt, dass etwa 6% der Patienten schwerwiegende Blutungskomplikationen entwickeln (Schulmann 2008).

Die therapeutische Anwendung von rekombinantem aktivierten Protein C (▶ Kap. 54) in der Therapie der schweren Sepsis ist mit einem signifikanten Anstieg des Blutungsrisikos verbunden. In der zur Zulassung führenden Prowess-Studie traten in der mit rAPC behandelten Gruppe bei 3,5% der Patienten schwerwiegende Blutungen auf, in der Placebogruppe bei 2% (Bernard 2001). In den Nachbeobachtungsstudien lagen die Zahlen noch leicht höher.

**Tab. 30.34.** Antidotstrategien bei medikamenteninduzierten Blutungen

| Medikament | Antidotstrategie |
|---|---|
| Unfraktioniertes Heparin | Protamin |
| Niedermolekulares Heparin | Protamin (eingeschränkte Wirksamkeit) |
| Fondaparinux | Ultima Ratio: rFVIIa |
| Danaparoid-Natrium | Ultima Ratio: rFVIIa |
| Hirudin | Hämofiltration; Ultima Ratio: rFVIIa |
| Argatroban | Ultima Ratio: rFVIIa |
| Rivaroxaban | Ultima Ratio: rFVIIa |
| Dabigatran | Ultima Ratio: rFVIIa |
| Vitamin-K-Antagonisten | PPSB, Vitamin K |
| Acetylsalicylsäure | DDAVP, Thrombozyten |
| Thienopyridine | DDAVP, Thrombozyten |
| Antifibrinolytika | Tranexamsäure, FFP |

### Management von Blutungen unter Antithrombotika

Zur Beherrschung von schwerwiegenden und bedrohlichen Blutungen ist eine Unterbrechung der antithrombotischen Wirkung wünschenswert. Im Fall des unfraktionierten Heparins ist dies durch die Gabe von Protamin möglich. Niedermolekulare Heparine werden nicht mit der gleichen Effektivität wie unfraktioniertes Heparin durch Protamin neutralisiert. Trotzdem ist bei bedrohlichen Blutungen die Gabe von Protamin sinnvoll. In Abhängigkeit von der Art des eingesetzten niedermolekularen Heparins können etwa 30 – 70% des niedermolekularen Heparins neutralisiert werden. Das synthetische Heparin Fondaparinux kann durch Protamin nicht nennenswert neutralisiert werden. Die einzige Möglichkeit, bei bedrohlichen Blutungen die Hämostasesituation zu verbessern, besteht in der Gabe von rFVIIa. Das Gleiche gilt für bedrohliche Blutungen, die unter einer Therapie mit Danaparoid-Natrium, Hirudin, Bivalirudin, Argatroban oder den neu verfügbaren oralen direkten FXa- und Thrombininhibitoren auftreten (Tab. 30.34).

Eine schnelle Unterbrechung der antikoagulatorischen Wirkung der Vitamin-K-Antagonisten ist durch die Gabe von PPSB möglich. Diese sollte mit der intravenösen Gabe von 10 mg Vitamin K gekoppelt werden, da die Halbwertszeit der mit PPSB substituierten Gerinnungsfaktoren kürzer ist als die Wirkung der Vitamin-K-Antagonisten.

Nach dem Marktrückzug von Aprotinin steht kein Plasmininhibitor mehr zur Verfügung, mit dem eine schnelle Unterbrechung der Plasminwirkung erreicht werden kann. Durch die Gabe von Tranexamsäure kann bereits gebildetes Plasmin nicht neutralisiert werden. Trotzdem ist bei einer bedrohlichen Blutung unter der Gabe von Fibrinolytika die Gabe von Tranexamsäure sinnvoll, da diese die weitere Plasminbildung hemmen kann. Durch die Gabe von Frischplasma kann der Plasmininhibitor $\alpha_2$-Antiplasmin substituiert werden.

Treten Blutungen in Zusammenhang mit der Gabe von Thrombozytenfunktionshemmern auf, ist die Transfusion von Thrombozytenkonzentraten eine Möglichkeit, die Thrombozytenfunktion zu verbessern. Bei bedrohlichen Blutungen kann zusätzlich die Gabe von rFVIIa hilfreich sein. Eine weitere Möglichkeit, die Thrombozytenfunktion zu verbessern, besteht in der Gabe von DDAVP. Diese Option sollte insbesondere bei weniger schwerwiegenden Blutungen genutzt werden.

Nach Beherrschung der Akutsituation und Stabilisierung der klinischen Situation sollte die Planung der weiteren antithrombotischen Therapie mit der Überprüfung der Indikation zur Durchführung einer Behandlung mit Antithrombotika und einer Analyse der Umstände beginnen, unter denen die Blutung aufgetreten war.

Bestand zum Zeitpunkt der Blutung eine Überdosierung, kann die antithrombotische Therapie in regulärer Dosierung fortgeführt werden, sofern die Ursache für die Überdosierung erkannt wird und entsprechende Vorsorgemaßnahmen eingeleitet werden können.

War zum Blutungszeitpunkt der therapeutische Bereich nicht überschritten, ist die Blutung mit hoher Wahrscheinlichkeit Zeichen einer relativen Überdosierung. Ist eine

Fortführung der antikoagulatorischen Behandlung erforderlich, sollte eine Reduktion des therapeutischen Bereichs an das individuelle Blutungsrisiko versucht werden. Zur Bestimmung des individuellen therapeutischen Bereichs können Surrogatmarker wie das Fibrinfragment D-Dimer bei antikoagulierten Patienten oder die Überprüfung der thrombozytenfunktionshemmenden Wirkung bei reduzierter Dosis eines Thrombozytenfunktionshemmers hilfreich sein. Klinische Studien, mit denen die Effektivität eines derartigen Vorgehens belegt werden kann oder Leitlinien, die ein solches Vorgehen abbilden, existieren nicht.

### 30.11.2 Artifizielle Blutungen

Artifizielle Blutungen werden durch den Patienten selbst ausgelöst. Um ein Blutungsereignis zu provozieren, wählen Patienten am häufigsten Vitamin-K-Antagonisten. Ein Grund ist die breite Anwendung und die damit verbundenen Kenntnisse des Wirkungs- und Nebenwirkungsspektrums bei Patienten, Angehörigen und dem medizinischen Fachpersonal.

Trotz der typischen laboranalytischen Veränderungen wird von den Patienten die Einnahme von Vitamin-K-Antagonisten überzeugend verneint. Die Medikamenteneinnahme wird durch Bestimmung des Medikamentenspiegels und durch das therapeutische Ansprechen nach Vitamin-K-Gabe belegt. Differenzialdiagnostisch muss die Verabreichung durch Dritte und eine unwissentliche Intoxikation in Betracht gezogen werden.

Artifizielle Störungen stellen in der Mehrzahl der Fälle schwere persönlichkeitsstrukturelle Störungen dar. Der erste zentrale Therapieansatz stellt den Aufbau einer stabilen Arzt-Patient-Beziehung dar, die zumeist durch den bereits im Verdachtsfall hinzugezogenen psychiatrischen Konsiliararzt realisiert werden sollte.

**! Eine direkte Konfrontation des Patienten mit den selbstverletzenden Aktionen ist nicht sinnvoll, da häufig dann ein Beziehungsabbruch des Patienten folgt, der sich abgelehnt und gedemütigt fühlt.**

Zu beachten ist, dass bei einem Teil der Patienten tatsächlich eine Erkrankung vorliegt, die eine Indikation zur antithrombotischen Behandlung darstellt.

Seltener werden Thrombozytenfunktionshemmer oder Zytostatika zur Induktion von Blutungen genommen. Zukünftig dürften die oral verfügbaren direkten Faktor-Xa- und Thrombininhibitoren verstärkt für diese Ziele eingesetzt werden. In seltenen Fällen simulieren Patienten auch Blutungen, indem sie zuvor selbst abgenommenes Blut verschlucken und anschließend erbrechen oder einatmen.

### 30.11.3 Passive Blutungen

**Definition**

Unter dem Krankheitsbegriff der passiven Blutung werden Blutungen subsummiert, die ohne erkennbare exogene Ursache und ohne, dass ein Hinweis auf das Vorliegen einer Hämostasestörung besteht, auftreten.

Sie sind extrem selten und nicht anhand von objektivierbaren Kriterien zu diagnostizieren, sodass eine sichere Diagnosestellung meist nicht möglich ist. In der Literatur beschrieben ist das Auftreten von Blutschweiß, periorbitalen und konjunktivalen Blutungen sowie Blutungen, die den Malen des gekreuzigten Jesus Christus entsprechen (Holoubek 1996).

Eine Sonderform der Blutung, die möglicherweise eine Variante des Renault-Syndroms darstellt, ist das Gardner-Diamond-Syndrom (Bagot 1984). Bevorzugt betroffen sind junge Frauen. Nach einem spontan auftretenden Schmerzereignis kommt es zu einer Ekchymose. Bevorzugte Manifestationsstellen sind die Finger. Blutungen können aber auch am Thorax, am Abdomen und im Gesicht auftreten. Typischerweise verschwindet das Schmerzereignis mit dem Auftreten der Blutung oder des Hämatoms. Es wird spekuliert, dass ein Gefäßspasmus Ursache der Gefäßruptur und der Schmerzsymptomatik sein könnte. Die aufgetretenen Hämatome heilen in der Regel komplikationslos ab. Eine spezifische Therapie ist nicht erforderlich.

## Literatur


Bagot M, Bagot JL, Besserman O, Bertrand JC (1984) The Gardner-Diamond syndrome or painful recurrent ecchymotic purpura. Rev Stomatol Chir Maxillofac 85: 66–9

Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF et al. (2001) Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. N Engl J Med 344: 699–709

Beyth RJ, Quinn LM, Landefeld CS (1998) Prospective evaluation of an index for predicting risk of major bleeding in outpatients treated with warfarin. Am J Med 105: 91–99

Chimowitz MI, Lynn MJ, Howlett-Smith H et al. (2005) Comparison of warfarin and aspirin for symptomatic intracranial arterial stenosis. N Engl J Med 352: 1305–1316

Connolly S, Pogue J, Hart R et al. (2006) Clopidogrel plus aspirin versus oral anticoagulation for artrial fibrillation in the atrial fibrillation clopidogrel trial with irbestan for prevention of vascular events (ACTIVE W): a randomised controlled trial. Lancet 367: 1903–1912

Eriksson BI, Lassen MR (2003) Duration of prophylaxis against venous thromboembolism with fondaparinux after hip fracture surgery: a multicenter, randomized, placebo-controlled, double-blind study. Arch Intern Med 163: 1337–1342

Fibrinolytic therapy trialists (FTT) collaborative group (1994) Indications for fibrinolytic therapy in suspected acute myocardial infarction: collaborative overview of early mortality and major morbidity results from all randomised trials of more than 1000 patients. Lancet 343: 311–322

Holoubek JE, Holoubek AB (1996) Blood, sweat and fear. »A classification of hematidrosis«. J Med 27: 115–133

Hylek EM, Singer DE. Risk factor for intracranial hemorrhage in outpatients taking warfarin. Ann Intern Med 1994120: 897–902

Kearon C, Gent M, Hirsh J et al. (1999) Extended anticoagulation compared to placebo after three months of therapy for a first episode of idiopathic venous thromboembolism. N Engl J Med 340: 901–907

Landefeld CS, Beyth RJ (1993) Anticoagulant-related bleeding: clinical epidemiology, prediction, and prevention. Am J Med 95: 315–328

Niewenhuis HK, Albada J, Banga JD et al. (1991) Identification of risk factors for bleeding during treatment of acute venous thromboembolism with heparin and low molecular weight heparin. Blood 78: 2337–2343

Palareti G, Leali N, Coccheri S et al. (1996) Bleeding complications of oral anticoagulant treatment: an inception-cohort, prospective, collaborative study (ISCOAT). Lancet 348: 423–428

Schulman S, Elbazi R, Zondag M, O'Donnell M (2008) Clinical factors influencing normalization of prothrombin time after stopping warfarin: a retrospective cohort study. Thromb J 16(6): 15

Shireman TI, Mahnken JD, Howard PA, Kresowik TF, Hou Q, Ellerbeck EF (2006) Development of a contemporary bleeding risk model for elderly warfarin recipients. Chest 130: 1390–6

Sorenson RU, Newman AJ, Gordon EM (1985) Psychogenic purpura in adolescent patients. Clin Pediatr 24: 700–704

The European Atrial Fibrillation Trial Study Group (1995) Optimal oral anticoagulant therapy in patients with nonrheumatic atrial fibrillation and recent cerebral ischemia. N Engl J Med 6: 5–10

Verstraete M (1991) Psychogenic hemorrhages. Verh K Acad Geneeskd Belg 53: 5–28

Wells PS, Forgic MA, Simms MS et al. (2003) The outpatient bleeding risk index – validation of a tool for predicting bleeding rates in patients treated for deep venous thrombosis and pulmonary embolism. Arch Intern Med 163: 917–920

Yan AT, Yan RT, Huynh T et al. (2008) Bleeding and outcome in acute coronary syndrome : insights from continuous electrocardiogram monitoring in the integrilin and enoxaparin randomized assessment of acute coronary syndrome treatment (INTERACT) trial. Am Heart J 156: 769–775

# 31 Venöse Thromboembolien

## 31.1 Pathogenese und Risikofaktoren der venösen Thrombose

*P. A. Kyrle, S. Eichinger*



### Einleitung

Die venöse Thrombose gehört mit einer Inzidenz von etwa 1:1.000 pro Jahr zu den häufigsten Erkrankungen. Das individuelle Thromboserisiko ist von dem genetischen Hintergrund und dem Vorliegen von exogenen Risikofaktoren abhängig. Zu den häufigsten hereditären Risikofaktoren gehören die Faktor-V-Leiden-Mutation und die Prothrombin-G20210A-Mutation. Prädisponierende Risikosituationen sind u. a. Operationen, Traumata, Immobilisation und Tumorerkrankungen. Damit ist die venöse Thromboembolie ein typisches Beispiel einer multikausalen Erkrankung.



### Epidemiologie

Die venöse Thromboembolie ist eine sehr häufige Erkrankung und geht mit einer beträchtlichen Morbidität und Mortalität einher. Die Inzidenz der venösen Thromboembolie wird häufig unterschätzt (Heit 2005; Naess et al. 2007; Cohen et al. 2007). Eine Venenthrombose verläuft nicht selten asymptomatisch oder wird nicht als solche diagnostiziert. Die Lungenembolie wiederum wird oftmals nicht als unmittelbare Todesursache erkannt. Rezente Schätzungen über die Häufigkeit der venösen Thromboembolie in 6 Ländern der Europäischen Union (Frankreich, Deutschland, Italien, Spanien, Schweden, Großbritannien) belaufen sich pro Jahr auf etwa 465.000 Fälle einer Venenthrombose und 295.000 Fälle einer Lungenembolie (Cohen et al. 2007). Etwa 370.000 Todesfälle pro Jahr werden in der gleichen Untersuchung in ursächlichen Zusammenhang mit dem Auftreten einer Thrombose gebracht, in 7% war die Thrombose vor Todeseintritt diagnostiziert worden.

In klinischen Studien wird die Inzidenz einer ersten Venenthrombose mit etwa 0,9 pro 1.000 Personenjahre angegeben. Lungenembolien treten mit einer Häufigkeit von 0,5 pro 1.000 Personenjahre auf. Die 30-Tage-Mortalität beträgt 28% (Heit et al. 2001). Die Venenthrombose ist im Kindesalter sehr selten, die Häufigkeit steigt mit dem Alter deutlich an. Die jährliche Inzidenz beträgt bei den 65- bis 69-Jährigen 1,8 pro 1.000 Personenjahre und bei den 85- bis 89-Jährigen sogar mehr als 3 pro 1.000 Personenjahre (Silverstein et al. 1998).

Zwei Drittel der Venenthrombosen treten im Rahmen von erworbenen, zeitlich begrenzten Risikosituationen, d. h. im Rahmen von Operationen, Immobilisation, Krankenhausaufenthalt oder Tumorerkrankung, auf (Heit et al. 2001). Die Inzidenz der venösen Thromboembolie unterscheidet sich nicht zwischen Kaukasiern und Schwarzafrikanern, ist aber in der asiatischen Bevölkerung wesentlich geringer (Kyrle u. Eichinger 2005). Das Risiko für die Erstmanifestation einer Venenthrombose dürfte bei Männern etwas höher als bei Frauen sein, das Rezidivrisiko ist bei Männern deutlich höher (Kyrle et al. 2004).

### Pathogenese

Der Pathologe Rudolf Virchow postulierte 1856, dass Schäden der Gefäßwand, eine verlangsamte oder gestörte Geschwindigkeit des Blutflusses und eine gesteigerte Gerinnbarkeit des Blutes (Hyperkoagulabilität) ursächlich für das Auftreten von Thrombosen sind. Dieses Modell hat bis zum heutigen Tag Gültigkeit. Venöse Thromben bilden sich v. a. im Gefäßabschnitt mit niedriger Fließgeschwindigkeit und bestehen in erster Linie aus Fibrin, Erythrozyten und aus relativ wenigen Thrombozyten. Ungefähr 50–80% aller proximalen Beinvenenthrombosen nehmen ihren Ursprung im Bereich der Klappen der Unterschenkelvenen, die restlichen entstehen direkt in den proximalen Venen (Nicolaides et al. 1971).

Die meisten Thromben in den distalen Venen lösen sich spontan auf, nur 20–30% breiten sich auf das proximale Stromgebiet aus. Durch die Bildung von Thromben erhöht sich der kapilläre Druck. Dies führt zu einer erhöhten transkapillären Filtrationsrate und letztendlich zum Auftreten von Ödemen.

Bei etwa der Hälfte der Patienten, die eine Venenthrombose erlitten haben, kommt es innerhalb von wenigen Monaten durch Autolyse der Gerinnsel und Neoangiogenese zur Rekanalisierung und somit zu einer deutlich verbesserten Durchgängigkeit des betroffenen Gefäßabschnittes (Killewich et al. 1989).

**! Bei Patienten, bei denen bereits kurz nach dem thrombotischen Ereignis Ödeme auftreten, ist die Wahrscheinlichkeit einer Rekanalisierung geringer. Diese Patienten haben auch in der Folge ein erhöhtes Risiko für das Auftreten eines postthrombotischen Syndroms (Killewich et al. 1989).**

Eine Lungenembolie entsteht meist aus Thromben im Bereich der Becken- oder tiefen Beinvenen. Seltenere Embo-

liequellen sind Thromben im tiefen Armvenensystem, in Ovarial- oder Nierenvenen oder im Bereich des rechten Herzens (Moser u. Le Moine 1981). Die Thromben lösen sich teilweise oder zur Gänze ab und wandern über die venöse Strombahn in das rechte Herz. Große Thromben bleiben bereits an der Bifurkation oder im Bereich des Pulmonalarterienhauptstammes stecken und können zu einer unter Umständen lebensbedrohlichen, hämodynamischen Beeinträchtigung führen. Kleinere Thromben gelangen in weiter distal gelegene Abschnitte des Pulmonalarterienstromgebiets, wo sie pleuritische Schmerzen, Dyspnoe, Hämoptysen und Husten hervorrufen können. Am häufigsten sind die unteren Lungenabschnitte betroffen und oftmals treten Lungenembolien multipel auf.

Durch den mechanischen Gefäßverschluss kommt es zu einem Anstieg des Pulmonalarterienwiderstands. Die Beeinträchtigung des Gasaustauschs ist durch den vergrößerten alveolären Totraum, durch Ausbildung intrapulmonaler Rechts-Links-Shunts und durch einen gestörten Transfer von Kohlendioxid aufgrund einer verminderten Gasaustauschoberfläche bedingt. Durch die Embolie kommt es auch zu einer Freisetzungsreaktion inflammatorischer Mediatoren, die zu einer Dysfunktion des Surfactant und zur Bildung von Atelektasen führen (Goldhaber 2004).

Eine massive Lungenembolie ist durch einen systolischen Blutdruckwert unter 90 mmHg oder einen Abfall des systolischen Blutdrucks von mehr als 40 mmHg des Ausgangswerts, der nicht durch Hypovolämie, Sepsis oder neu aufgetretene Rhythmusstörungen erklärt werden kann, definiert (Task Force on Pulmonary Embolism 2000). Die hämodynamische Auswirkung einer Lungenembolie ist von der Größe des Embolus, vorbestehenden kardiopulmonalen Erkrankungen und der Aktivierung neurohumoraler Mechanismen abhängig. Der Druckanstieg im rechten Ventrikel und in den Pulmonalarterien führt zur Dilatation und Hypokinesie des rechten Herzens und letztlich zu Rechtsherzversagen.

Ein plötzlicher Druckanstieg im Bereich des rechten Herzens beeinträchtigt aufgrund der anatomischen Juxtaposition der beiden Ventrikel und der funktionalen Abhängigkeit auch die Linksherzfunktion. Ein Anstieg des rechtsventrikulären Drucks kann zu einer Verschiebung des Septums in Richtung des linken Ventrikels und somit zu einer verminderten Auswurfleistung des linken Herzens führen. Durch die daraus resultierende verminderte koronare Durchblutung kommt es zur Ischämie des rechten Herzens verbunden mit Herzstillstand und Tod (Goldhaber 2004).

Die Bedeutung der rechtsventrikulären Dysfunktion im Hinblick auf das Mortalitätsrisiko von Patienten mit Lungenembolie ist unklar (ten Wolde et al. 2004; Goldhaber 2002). In einem Kollektiv, in dem hypo- und normotensive Patienten gemeinsam ausgewertet wurden, war eine rechtsventrikuläre Dysfunktion mit einem 2-fach höheren Mortalitätsrisiko assoziiert (ten Wolde et al. 2004). Die Mortalität war bei Patienten mit Rechtsherzversagen und einem erhöhten Spiegel des »brain natriuretic peptide« (BNP) am höchsten (Pieralli et al. 2006). Beschränkt sich die Analyse nur auf normotensive Patienten, besitzt eine Dysfunktion des rechten Ventrikels keine wesentliche Voraussagekraft für die Mortalität (ten Wolde et al. 2004). Eine persistierende rechtsventrikuläre Dysfunktion ist jedoch möglicherweise mit einem erhöhten Rezidivrisiko verbunden (Grifoni et al. 2006).

### Risikofaktoren und Risikosituationen für venöse Thromboembolien

Die venöse Thromboembolie ist ein typisches Beispiel einer multikausalen Erkrankung (Mannucci 2002). Bei der Entstehung venöser Thromboembolien sind meist mehrere, oftmals unterschiedlich starke Risikofaktoren ursächlich beteiligt. Die Interaktion der verschiedenen Risikofaktoren führt zu einem additiven, oft aber auch multiplikativen Anstieg des Thromboserisikos.

Man unterscheidet zwischen angeborenen Risikofaktoren (hereditäre Thrombophilie) und Risikofaktoren, die erworben und für einen mehr oder weniger langen Zeitraum relevant sind (»erworbene« Risikofaktoren, siehe Übersichten; Kyrle u. Eichinger 2005; Goldhaber 2004). Die wichtigsten angeborenen Risikofaktoren sind aufgrund ihrer hohen Prävalenz die Faktor-V-Leiden-Mutation und die G20210A-Mutation im Prothrombingen. Der Antithrombinmangel ist selten, bedingt aber eine schwere Thromboseneigung.

**Thrombophile Risikofaktoren**

- Faktor-V-Leiden-Mutation
- Prothrombin-G20210A-Mutation
- Antithrombinmangel
- Protein-C-Mangel
- Protein-S-Mangel
- hohe Plasmaspiegel der Faktoren VIII, IX oder XI
- Lupushemmstoff
- hoher TAFI-Spiegel (»thrombin activatable fibrinolysis inhibitor«)
- Hyperhomozysteinämie
- Dysfibrinogenämie, Hyperfibrinogenämie
- Plasminogenmangel

Der bedeutendste erworbene Risikofaktor ist das höhere Lebensalter. Im Sinne der Multikausalität der Venenthrombose und der Interaktion zwischen den verschiedenen Risikofaktoren erhöht Altern das durch angeborene oder andere erworbene Risikofaktoren vermittelte Thromboserisiko. Chirurgische Eingriffe und Verletzungen, besonders an den unteren Extremitäten, sind ebenfalls mit einem Thrombo-

serisiko assoziiert. Schwangerschaft und Entbindung, Einnahme oraler östrogenhaltiger Kontrazeptiva und die Hormonersatztherapie in der Menopause bedingen ebenfalls ein erhöhtes Thromboserisiko.

Armand Trousseau beschrieb bereits Mitte des 19. Jahrhunderts, dass bösartige Erkrankungen mit einem deutlich erhöhten Thromboserisiko einhergehen. Erst seit wenigen Jahren ist bekannt, dass das lange Verharren in sitzender Position, wie es bei langen Flug-, Bus- und Autoreisen der Fall ist, zum Auftreten von venösen Thromboembolien führen kann (Kuipers et al. 2007).

**Thrombophile Risikosituationen**

- Alter
- Übergewicht
- frühere Thrombose oder Lungenembolie
- Operation
- Trauma
- Vena-cava-Filter
- zentraler Venenkatheter
- lange Reisen in vorwiegend sitzender Haltung
- Bettlägerigkeit
- Immobilisation
- Lähmungen
- Tumorerkrankung
- akute interne Erkrankung (z. B. akuter Herzinfarkt, Herzinsuffizienz, respiratorische Insuffizienz, Infektionen)
- chronisch entzündliche Darmerkrankungen
- Dyslipoproteinämie
- nephrotisches Syndrom
- paroxsysmale nächtliche Hämoglobinurie
- myeloproliferative Syndrome
- Behçet-Krankheit
- Varizen
- oberflächliche Venenentzündung, Varikophlebitis
- angeborene Venenanomalien
- Schwangerschaft und Wochenbett
- orale östrogenhaltige Kontrazeptiva
- Hormonersatztherapie
- heparininduzierte Thrombozytopenie Typ II
- Chemotherapie
- Tamoxifen
- Thalidomid
- intravenöser Drogenabusus

## Literatur

Cohen AT, Agnelli G, Anderson FA et al. (2007) Venous thromboembolism (VTE) in Europe. The number of VTE events and associated morbidity and mortality. Thromb Haemost 98: 756–764

Goldhaber S (2004) Pulmonary embolism. Lancet 363: 1295–305

Goldhaber SZ (2002) Echocardiography in the management of pulmonary embolism. Ann Intern Med 136: 691–700.

Grifoni S, Vanni S, Magazzini S, Olivotto I, Conti A, Zanobetti M, Polidori G, Pieralli F, Peiman N, Becattini, C, Agnelli G (2006) Association of persistent right ventricular dysfunction at hospital discharge after acute pulmonary embolism with recurrent thromboembolic events. Arch Intern Med 166: 2151–6

Heit JA (2005) Venous thromboembolism: disease burden, outcomes and risk factors. J Thromb Haemost 3: 1611–7

Heit JA, Silverstein MD, Mohr DN, Petterson TM, Lohse CM, O'Fallon WM, Melton LJ 3rd. (2001) The epidemiology of venous thromboembolism in the community. Thromb Haemost 86: 452–63

Killewich LA, Bedford GR, Beach KW, Strandness DE Jr. (1989) Spontaneous lysis of deep venous thrombi: rate and outcome. J Vasc Surg 9: 89–97

Kuipers S, Schreijer AJ, Cannegieter SC, Büller HR, Rosendaal FR, Middeldorp S (2007) Travel and venous thrombosis: a systematic review. J Intern Med 262: 615–34

Kyrle PA, Eichinger S (2005) Deep vein thrombosis. Lancet 365: 1163–74

Kyrle PA, Minar E, Bialonczyk C, Hirschl M, Weltermann A, Eichinger S (2004) The risk of recurrent venous thromboembolism in men and women. N Engl J Med 350: 2558–63

Mannucci PM (2002) The measurement of multifactorial thrombophilia. Thromb Haemost 88: 1–2

Moser KM, Le Moine JR (1981) Is embolic risk conditioned by location of deep venous thrombosis? Ann Intern Med 94: 439–44

Naess IA, Christiansen SC, Romundstad P, Cannegieter SC, Rosendaal FR, Hammerstrøm J (2007) Incidence and mortality of venous thrombosis: a population-based study. J Thromb Haemost 5: 692–9

Nicolaides AN, Kakkar VV, Field ES, Renney JT (1971) The origin of deep vein thrombosis: a venographic study. Br J Radiol 44: 653–63

Pieralli F, Olivotto I, Vanni S, Conti A, Camaiti A, Targioni G, Grifoni S, Berni G (2006) Usefulness of bedside testing for brain natriuretic Peptide to identify right ventricular dysfunction and outcome in normotensive patients with acute pulmonary embolism. Am J Cardiol 97: 1386–90

Silverstein MD, Heit JA, Mohr DN, Petterson TM, O'Fallon WM, Melton, LJ 3rd (1998) Trends in the incidence of deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a 25-yearpopulation-based study. Arch Intern Med 158: 585–93

Task Force on Pulmonary Embolism, European Society of Cardiology (2000) Guidelines on diagnosis and management of acute pulmonary embolism. Eur Heart J 21: 1301–1336

ten Wolde M, Sohne M, Quak E, Mac Gillavry, MR Buller, HR (2004) Prognostic value of echocardiographically assessed right ventricular dysfunction in patients with pulmonary embolism. Arch Intern Med 164: 1685–9

### 31.1.1 Hereditäre thrombophile Risikofaktoren

*P. A. Kyrle, S. Eichinger*



## Einleitung

Hereditäre thrombophile Risikofaktoren erhöhen das individuelle Thromboserisiko unabhängig vom Lebensalter und exogenen Risikofaktoren. Die Faktor-V-Leiden-Mutation und die Prothrombin-Mutation sind in Populationen mit kaukasischer Abstammung die häufigsten thrombophilen Risikofaktoren. Sie erhöhen in heterozygoter Ausprägung das thrombophilie Risiko um das etwa 5- bis 10-fache bzw. 10- bis 30-fache. Zu den seltenen Störungen zählen der Protein-C-, Protein-S- und Antithrombinmangel. Eine weitere Ursache für ein erhöhtes Thromboserisiko sind erhöhte Plasmaspiegel einzelner Gerinnungsfaktoren.

#### Antithrombinmangel

Antithrombin ist ein aus 432 Aminosäuren bestehendes Glykoprotein, das in der Leber synthetisiert wird (▶ Kap. 26). Das Antithrombingen ist auf dem Chromosom 1 lokalisiert und besteht aus 7 Exons und 6 Introns (Bock et al. 1985). Antithrombin hemmt die Gerinnung, indem es Thrombin, aber auch andere Serinproteasen, wie z. B. die Faktoren Xa und IXa, hemmt. In Abwesenheit von Heparin erfolgt die Inaktivierung von Thrombin nur langsam, in Gegenwart von Heparin hingegen sehr rasch.

Antithrombin hat 2 funktionelle Stellen: das reaktive Zentrum und die Heparinbindungsstelle. Das reaktive Zentrum wird durch Thrombin gespalten, worauf ein inaktiver Komplex entsteht, der rasch aus der Zirkulation eliminiert wird. Bindung von Heparin an Antithrombin führt zu einer Konformationsänderung und einer 4.000-fachen Beschleunigung der Inaktivierungsschritte.

#### Angeborener Antithrombinmangel

Antithrombinmangel war der als erstes entdeckte Risikofaktor für eine angeborene Thrombophilie. Egeberg beschrieb 1965 eine norwegische Familie, deren Mitglieder Antithrombinplasmakonzentrationen zwischen 40 und 50% des Normalwerts aufwiesen und an rezidivierenden thromboembolischen Komplikationen litten (Egeberg 1965). Der Antithrombinmangel wird autosomal dominant vererbt und kommt je nach Subtyp mit einer Prävalenz von 1:2.000 bis 1:5.000 (Subtyp I) bzw. 1:250 bis 1:500 (Subtyp II, Defekt der Heparinbindungsstelle) in der Bevölkerung vor (Tait et al. 1994).

Der Subtyp I entspricht einem quantitativen Mangel, der durch eine verminderte Produktion eines biologisch normalen Antithrombinmoleküls bedingt ist (Ambruso et al. 1982). Verschiedene Mutationen wurden als ursächlich beschrieben. Am häufigsten finden sich kleine Deletionen, Insertionen und seltener lange Deletionen im Antithrombingen (Lane et al. 1997). Subtyp I tritt nur in heterozygoter Form auf, da homozygote Formen schon in utero letal sind.

Subtyp II entsteht durch einen molekularen Defekt des Antithrombins. Bei dieser Variante ist die Antithrombinaktivität stark vermindert, die Antigenspiegel aber sind normal. Bei diesem Subtyp lassen sich mehrere Varianten unterscheiden, je nach dem, ob die Heparinbindungsstelle, die Thrombinbindungsstelle oder das carboxyterminale Ende des Antithrombinmoleküls betroffen ist (Lane et al. 1996). Der Subtyp II tritt meist in heterozygoter Form auf, vereinzelt wurden homozygote Patienten beschrieben.

Der angeborene Antithrombinmangel ist ein starker, aber seltener Risikofaktor für venöse Thromboembolien. Er lässt sich bei 0,5–1% der Patienten mit einer ersten Venenthrombose nachweisen (Mateo et al. 1997). Bei den betroffenen Patienten treten am häufigsten Thrombosen in den Bein- und Beckenvenen auf (Demers et al. 1992; Thaler et al. 1981). Venenthrombosen an anderen Lokalisationen sind seltener. Lungenembolien treten bei ca. 50% der Patienten auf. Es wurde vereinzelt über arterielle Thrombosen bei Patienten mit Antithrombinmangel berichtet, sie sind aber nicht typisch für die Erkrankung (Candrina et al. 1986; Feinbloom u. Bauer 2005).

Die Erkrankung manifestiert sich selten im Kindesalter, das Thromboserisiko nimmt aber mit steigendem Alter rasch zu. Die meisten Patienten mit Antithrombinmangel erleiden die Thrombose vor dem 40. Lebensjahr. Häufig treten die Thrombosen spontan auf, das Thromboserisiko der Patienten erhöht sich allerdings durch andere Faktoren wie Operation, Schwangerschaft oder die Einnahme oraler Kontrazeptiva (Thaler et al. 1981; Pabinger u. Schneider 1996). Patienten mit Subtyp I und jene mit Subtyp II, bei denen die Thrombinbindungsstelle betroffen ist, haben eine besonders ausgeprägte Thromboseneigung (Demers et al. 1992). Bei heterozygoten Patienten mit Veränderungen an der Heparinbindungsstelle ist die Thromboseneigung weit weniger stark (Lane et al. 1996; Girolami 1987); homo-

zygote Patienten mit einem solchen Defekt haben eine starke Thromboseneigung.

**! Behandlung und Prophylaxe venöser Thromboembolien unterscheiden sich beim Patienten mit Antithrombinmangel primär nicht von anderen Patienten. Heparin ist auch bei diesen Patienten das Mittel der Wahl (Maclean u. Tait 2007).**

Der Nutzen von Antithrombinkonzentraten (rekombinant oder aus Humanplasma hergestellt) ist bei Patienten mit angeborenem Antithrombinmangel unzureichend untersucht (Lechner u. Kyrle 1995). In Situationen, in denen aufgrund eines hohen Blutungsrisikos eine intensive Antikoagulation nicht möglich ist (z. B. perioperativ oder peripartal), ist die Verabreichung eines solchen Konzentrats jedenfalls angezeigt. Die Substitutionstherapie erfolgt unter engmaschiger Kontrolle der Antithrombinspiegel, um sicherzustellen, dass die Plasmakonzentrationen im Normalbereich liegen.

Eine normale Antithrombinaktivität schließt einen Mangel aus. Im Fall eines verminderten Werts muss die Antithrombinbestimmung wiederholt werden, da es viele andere Ursachen außer angeborenen Mangelzuständen für einen Abfall der Antithrombinplasmaspiegel gibt. Durch eine kombinierte Bestimmung der Antithrombinaktivität und des Antithrombinantigens ist eine Unterscheidung zwischen den Suptypen I und II möglich (Demers et al. 1993; Michiels u. Hamulyak 1998). Die Untersuchung von verwandten Familienmitgliedern kann hilfreich für die Erstellung der Diagnose eines hereditären Antithrombinmangels sein.



### Erworbener Antithrombinmangel

Verminderte Antithrombinplasmaspiegel bei Patienten mit akuter venöser Thromboembolie sind oftmals durch das akute Ereignis selbst und/oder durch die Behandlung mit Heparin bedingt. Es ist deshalb erforderlich, die Laboruntersuchungen mit ausreichendem Zeitabstand zum Akutereignis durchzuführen und ggf. zu wiederholen.

Zu einer Verminderung der Antithrombinspiegel kann es auch aufgrund einer Synthesestörung im Rahmen einer Hepatopathie kommen (Damus u. Wallace 1975). Durch eine Behandlung mit L-Asparaginase wird die Proteinsynthese gehemmt, wodurch es zum Absinken der Antithrombinkonzentration kommen kann (Mitchell et al. 2003). Beim nephrotischen Syndrom sind verminderte Antithrombinspiegel durch eine Ausscheidung über den Harn erklärbar (Kauffmann et al. 1978). Im Rahmen einer Verbrauchskoagulopathie kann es auch zu einem Verbrauch von Antithrombin kommen (Mammen 1998). Verschiedene Medikamente, wie z. B. orale Kontrazeptiva oder Heparin, können zu einer Verminderung von Antithrombin führen (Weenink et al. 1984).

Ob ein Zusammenhang zwischen den erworbenen Mangelzuständen und einer klinischen Thromboseneigung besteht, ist unklar. Wirksamkeit und Sicherheit der Antithrombinsubstitution sind bei erworbenen Mangelzuständen unzureichend untersucht (Lechner u. Kyrle 1995, Maclean u. Tait 2007). Bei Sepsispatienten wurde in einer Phase-III-Studie kein Einfluss einer Antithrombinsubstitution auf das Überleben der Patienten nachgewiesen (Warren et al. 2001).

## Protein-C-Mangel

Protein C ist ein Glykoprotein, das in der Leber synthetisiert wird (► Kap. 25). Das Protein-C-Gen ist auf dem Chromosom 2 lokalisiert und besteht aus 9 Exons und 8 Introns (Foster et al. 1985, Plutzky et al. 1986). Das Protein besteht aus einer schweren und einer leichten Kette, die durch eine Disulfidbrücke miteinander verbunden sind. Das Protein erlangt erst durch Carboxylierung aller Glutaminsäurereste seine volle Wirksamkeit. Da diese Carboxylierung durch eine Vitamin-K-abhängige γ-Carboxylase katalysiert wird, zählt Protein C zu den Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren.

Protein C ist ein Zymogen, das erst nach Aktivierung durch Thrombin seine antikoagulatorische Wirkung entfalten kann (Clouse u. Comp 1986). Dieser Aktivierungsschritt kann rascher erfolgen, wenn Thrombin an endotheliales Thrombomodulin gebunden ist. Aktiviertes Protein C (APC) inaktiviert die Gerinnungsfaktoren Va und VIIIa durch Proteolyse, wobei dieser Prozess durch Protein S beschleunigt wird. Zusätzlich zu seiner gerinnungshemmenden Wirkung hat APC auch fibrinolyseaktivierende Eigenschaften.

Sowohl Protein C als auch APC werden durch den endothelialen Protein-C-Rezeptor (EPCR) an das Endothel gebunden, wodurch die Thrombin-Thrombomodulin-vermittelte Aktivierung von Protein C verstärkt wird. An Endothel gebundenes APC hat sowohl starke antiinflammatorische Wirkung als auch einen durch den proteaseaktivierten Rezeptor 1 (PAR1) vermittelten zytoprotektiven Effekt (Mosnier et al. 2007).

### Angeborener Protein-C-Mangel

Griffin beschrieb 1981 eine Familie, deren Mitglieder an rezidivierenden Thrombosen litten und bei der sich ein hereditärer Protein-C-Mangel nachweisen ließ (Griffin et al. 1981). Der Protein-C-Mangel wird autosomal dominant vererbt und findet sich mit einer Prävalenz von 1:200 bis 1:500 in der Bevölkerung (Miletich et al. 1987; Tait et al. 1995). Die zugrunde liegenden genetischen Veränderungen sind sehr heterogen und lassen sich in großer Vielfalt nachweisen (Reitsma 1997).

Beim Protein-C-Mangel lassen sich 2 Subtypen unterscheiden. Subtyp I entspricht dem klassischen Mangel, bei

dem die Produktion eines biologisch normalen Protein-C-Moleküls vermindert ist. Die Protein-C-Plasmakonzentration beträgt beim heterozygoten Patienten etwa 50% des Normalwerts. Die phänotypische Penetranz des heterozygoten Protein-C-Mangels des Subtyps I ist sehr unterschiedlich. Es wird deshalb vermutet, dass zusätzlich vorliegende thrombophile Risikofaktoren die Thromboseneigung modulieren (Bertina 2000). Die Thromboseneigung innerhalb von Familien mit Protein-C-Mangel wird durch das Vorliegen einer Faktor-V-Leiden-Mutation beeinflusst (Koelemann et al. 1994). Allerdings findet sich eine Faktor-V-Leiden-Mutation nur bei ca. 20% der Familien mit Protein-C-Mangel. Wodurch die phänotypische Ausprägung der Thromboseneigung bei anderen Familien mit Protein-C-Mangel determiniert wird, ist derzeit ungeklärt.

Der Subtyp II entsteht durch einen molekularen Defekt des Protein C, wodurch die Protein-C-Aktivität stark vermindert, der Antigenspiegel aber normal ist. Der Defekt am Protein C kann die Aktivierung von Protein C, das aktive Zentrum oder die Bindung von aktiviertem Protein C an Faktor VIII oder V, an Protein S oder an Phospholipide betreffen (Lind et al. 1997).

Der angeborene Protein-C-Mangel ist ein starker, aber seltener Risikofaktor für venöse Thromboembolien. Er findet sich bei 2–5% der Patienten mit einer ersten Venenthrombose (Mateo et al. 1997).

**! Personen mit heterozygotem Protein-C-Mangel haben ein ca. 7-fach höheres Risiko für eine erste Venenthrombose (Martinelli et al. 1998).**

Bei den betroffenen Patienten treten häufig Bein- oder Beckenvenenthrombosen und Lungenembolien auf. Mesenterialvenenthrombosen sind selten, aber für den Protein-C-Mangel charakteristisch. Der Protein-C-Mangel bedingt ein erhöhtes Risiko für zerebrale Venenthrombosen, das besonders durch Einnahme oraler Kontrazeptiva verstärkt wird (de Bruijn et al. 1998). Das Thromboserisiko von Patienten mit Protein-C-Mangel wird durch zusätzliche Risikofaktoren wie Operation, Trauma, Schwangerschaft oder Immobilisation erhöht (Pabinger u. Schneider 1996). Ein erhöhtes Risiko für das Auftreten arterieller Thrombosen konnte bei Patienten mit Protein-C-Mangel bisher nicht gezeigt werden (Feinbloom u. Bauer 2005).

Homozygote oder doppelt heterozygote Neugeborene mit Protein-C-Mangel haben eine schwere Thromboseneigung, die durch das Auftreten einer Purpura fulminans unmittelbar nach der Geburt charakterisiert ist (Branson et al. 1983; Seligsohn et al. 1984). Die Kinder weisen Ekchymosen und umschriebene Hautnekrosen auf, haben venöse und/oder arterielle Thromboembolien und eine Verbrauchskoagulopathie. Die Protein-C-Antigenkonzentration im Plasma ist stark vermindert. Die Therapie der Wahl ist die rasche Verabreichung eines Protein-C-Konzentrats in Kombination mit einer Antikoagulanzientherapie mit einem Vitamin-K-Antagonisten (Dreyfus et al. 1991; Conard et al. 1993; Peters et al. 1988).

Die Warfarinnekrose (Marcumarnekrose) ist eine sehr seltene Komplikation der Behandlung mit Vitamin-K-Antagonisten, ihr Auftreten kann hinweisgebend für einen bis dahin unbekannten Protein-C-Mangel sein (McGhee et al. 1984). Typischerweise kommt es in den ersten Tagen nach Beginn der Therapie mit einem Vitamin-K-Antagonisten zu makulopapulösen Hautläsionen mit bevorzugter Lokalisation an Körperstellen mit reichlich subkutanem Fettgewebe (Brust, Bauch, Oberschenkel). Im weiteren Verlauf breitet sich die Läsion aus, wird zentral nekrotisch, bleibt aber durch einen roten Randsaum scharf von der Umgebung demarkiert. Die Läsionen ähneln denen von Neugeborenen mit schwerem Protein-C-Mangel und Purpura fulminans. Die Komplikation tritt häufiger auf, wenn hohe Initialdosen eines Vitamin-K-Antagonisten verwendet werden.

Ursächlich für die Erkrankung wird ein Ungleichgewicht im Abfall der Plasmaspiegel der Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren diskutiert. Der Abfall von Faktor VII und Protein C erfolgt rasch nach Beginn der Therapie, während die Plasmaspiegel der anderen Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren (II, IX, X) aufgrund ihrer längeren Halbwertszeit langsamer sinken (d'Angelo et al. 1986).

**! Die Behandlung der Warfarinnekrose (Marcumarnekrose) besteht in der Verabreichung eines Protein-C-Konzentrats (de Stefano et al. 1993). Ein Wiederbeginn der Therapie mit einem Vitamin-K-Antagonisten ist unter Verwendung der Erhaltungsdosis möglich (Zauber u. Stark 1986).**

Die Diagnose des Protein-C-Mangels wird durch funktionelle Tests gestellt (Tripodi u. Mannucci 2000). Zur Typisierung muss das Antigen bestimmt werden. Während beim Subtyp I sowohl Protein-C-Aktivität als auch das Antigen vermindert sind, liegt beim Subtyp II nur eine Verminderung der Protein-C-Aktivität vor. Im Fall eines verminderten Werts muss die Protein-C-Bestimmung wiederholt werden, da die Protein-C-Werte durch andere Ursachen außer angeborenen Mangelzuständen vermindert sein können.

Verminderte Protein-C-Plasmaspiegel sind bei Patienten mit akuter venöser Thromboembolie oftmals durch das akute Ereignis selbst, Begleiterkrankungen oder durch die Behandlung mit Vitamin-K-Antagonisten bedingt (d'Angelo et al. 1986; Bertina et al. 1984).

**! Es ist erforderlich, die Laboruntersuchungen in einem ausreichenden Zeitabstand zum Akutereignis und nach Beendigung der Vitamin-K-Antagonistentherapie durchzuführen.**

Im Zweifelsfall kann die Untersuchung von verwandten Familienmitgliedern für die Etablierung der Diagnose hilfreich sein.

### Erworbener Protein-C-Mangel

Eine verminderte Protein-C-Plasmakonzentration findet sich bei Lebererkrankungen, schweren viralen oder bakteriellen Infektionen, Sepsis, Verbrauchskoagulopathie, Vitamin-K-Mangel, postoperativ oder während der Chemotherapie mit Cyclophosphamid, Methotrexat, 5-Fluorouracil oder L-Asparaginase (Gerson et al. 1993; Rintala et al. 1998).

Wirksamkeit und Sicherheit einer Substitution von APC sind bei erworbenen Mangelzuständen unzureichend untersucht. In einer Phase-III-Studie konnte bei Sepsispatienten ein geringer Vorteil einer Substitution von rekombinant hergestelltem APC auf das Überleben der Patienten gezeigt werden (Bernard et al. 2003).

## Protein-S-Mangel



Protein S ist ein einkettiges Glykoprotein, das in der Leber, in den Endothelzellen und Megakaryozyten synthetisiert wird (► Kap. 25). Das Protein-S-Gen ist auf dem Chromosom 3 lokalisiert und besteht aus 15 Exons und 14 Introns (Ploos van Amstel et al. 1987). Auf Chromosom 3 existieren 2 homologe Gene, PROS1 und PROS2 (Schmidel et al. 1990). PROS1 weist starke Homologie mit den anderen Vitamin-K-abhängigen Proteinen auf, PROS2 ist wahrscheinlich ein Pseudogen.

Die Synthese von Protein S ist in gleicher Weise von Vitamin K abhängig wie jene von Protein C. Protein S wirkt in Gegenwart von Phospholipiden und Kalzium als Kofaktor von Protein C bei der Inaktivierung der Faktoren Va und VIIIa (Esmon 1992). 40% des Protein S kommt in freier Form vor, 60% ist an das C4b-binding Protein gebunden. Das Verhältnis zwischen freiem und gebundenem Protein S ändert sich in Abhängigkeit von der Konzentration des C4b-binding-Proteins. Nur die freie Form des Protein S wirkt als Kofaktor des Protein C (Rezende et al. 2004).

### Angeborener Protein-S-Mangel

Comp und Schwarz beschrieben 1984 unabhängig voneinander den Protein-S-Mangel als Ursache einer familiären Thromboseneigung (Comp et al. 1984; Schwarz et al. 1984). Der Protein-S-Mangel wird autosomal dominant vererbt und findet sich mit einer Prävalenz von 0,03–0,13% in der Bevölkerung (Dykes et al. 2001). Die zugrunde liegenden genetischen Veränderungen sind sehr heterogen (Gandrille et al. 2000).

Beim Protein-S-Mangel lassen sich 3 Subtypen unterscheiden. Subtyp I entspricht dem klassischen Mangel, bei dem die Produktion eines funktionell normalen Protein-S-Moleküls vermindert ist (Schwarz et al. 1984; Broekmans et al. 1985). Die Plasmakonzentrationen des gesamten und freien Protein S sind auf ungefähr 50% des Normalwerts vermindert. Patienten mit Subtyp II haben normale, gesamte und freie Protein-S-Antigenwerte, die Aktivität des Protein S ist jedoch vermindert (Gandrille et al. 1995; Simmonds et al. 1996; Hayashi et al. 1994). Subtyp III ist durch einen normalen gesamten Protein-S-Antigenwert bei vermindertem freiem Protein S charakterisiert. Die Bedeutung des Subtyp III ist unklar, da es sich bei dieser Veränderung auch um eine erworbene Störung (Gandrille et al. 2000) oder um eine Variante des Subtyps I handeln könnte (Zöller et al. 1995; Brouwer et al. 2005).

Das klinische Erscheinungsbild des Protein-S-Mangels ähnelt dem des Antithrombin- oder Protein C–Mangels. Ein angeborener Protein-S-Mangel lässt sich bei ca. 3–7% der Patienten mit einer ersten Venenthrombose nachweisen (Mateo et al. 1997). Das Risiko für eine Thrombose von Personen mit heterozygotem Protein-S-Mangel ist etwa 8,5-fach höher als das von Personen ohne Protein-S-Mangel (Martinelli et al. 1998; Engesser et al. 1987; Simmonds et al. 1998). Bein- oder Beckenvenenthrombosen und Lungenembolien sind häufig. Mesenterialvenenthrombosen treten selten auf, sind aber charakteristisch für die Erkrankung. Risikofaktoren, wie Operation, Trauma, Immobilisation, Schwangerschaft oder orale Kontrazeptiva, verstärken die Thromboseneigung.

Ähnlich wie beim Protein-C-Mangel wird der Schweregrad der Thromboseneigung auch bei Familien mit Protein-S-Mangel durch zusätzlich vorliegende Risikofaktoren (z. B. Faktor-V-Leiden-Mutation) moduliert (Mustafa et al. 1998; Koeleman et al. 1997). Ein erhöhtes Risiko für das Auftreten arterieller Thrombosen konnte bisher bei Patienten mit Protein-S-Mangel nicht gezeigt werden (Feinbloom u. Bauer 2005).

Das Auftreten einer Purpura fulminans wurde bei Neugeborenen mit Protein-S-Mangel beschrieben, diese Komplikation ist jedoch wesentlich seltener als beim Protein-C-Mangel (Mahasandana et al. 1990). Die Warfarinnekrose (Marcumarnekrose) ist auch bei Patienten mit Protein-S-Mangel eine Komplikation der Vitamin-K-Antagonistentherapie (Sallah et al. 1998).

Auch für die Diagnostik des Protein-S-Mangels sollte ein funktioneller Test verwendet werden, um sowohl Patienten mit Subtyp I als auch die sehr selten vorkommenden Patienten mit Subtyp II zu identifizieren (Tripodi u. Mannucci 2001).

**! Die erhältlichen Tests sind jedoch nicht ausreichend spezifisch und können z. B. durch die APC-Resistenz beeinflusst werden. Deshalb hat die Bestimmung des freien Protein-S-Antigens in der Routinediagnostik die größte Bedeutung.**

Ein normaler freier Protein-S-Antigenwert und eine normale Aktivität schließen einen Mangel aus. Verminderte

Protein-S-Plasmaspiegel sind bei Patienten mit venöser Thromboembolie oftmals durch das akute Ereignis selbst, durch Begleiterkrankungen oder durch die Behandlung mit einem Vitamin-K-Antagonisten bedingt. Es ist deshalb erforderlich, die Laboruntersuchungen in einem ausreichenden Zeitabstand zum Akutereignis und nach Beendigung der Vitamin-K-Antagonistentherapie durchzuführen. Im Zweifelsfall kann die Untersuchung von verwandten Familienmitgliedern für die Diagnose hilfreich sein.

### Erworbener Protein-S-Mangel

Eine verminderte Plasmakonzentration des freien Protein S findet sich bei Lebererkrankungen, schweren viralen oder bakteriellen Infektionen, Sepsis, Verbrauchskoagulopathie und bei Vitamin-K-Mangel (d'Angelo et al. 1988). In einigen klinischen Situationen, wie z. B. während der Einnahme oraler Kontrazeptiva, kommt es zu einem Abfall der Konzentration des gesamten Protein S (Boerger et al. 1987). Da durch die Einnahme der Pille auch die Plasmaspiegel des C4b-binding-Proteins sinken, bleibt die Konzentration des freien Protein S normal. Besonders wichtig ist, dass es während der Schwangerschaft physiologisch zu einer Verminderung der freien Protein-S-Spiegel kommt (Comp et al. 1986).

## APC-Resistenz/Faktor-V-Leiden

### Angeborene APC-Resistenz

Dahlbäck beschrieb 1993 einen Patienten mit schwerer, familiärer Thromboseneigung (Dahlbäck et al. 1993). Das Plasma dieses Patienten war in einem APTT-abhängigen Gerinnungstest gegenüber gereinigtem aktiviertem Protein C (APC) resistent, d. h. es kam nach Zugabe des APC nicht zu der erwarteten Verlängerung der APTT. Bertina identifizierte 1994 eine Punktmutation (Glutamin zu Arginin) an Position 1691 im Faktor-V-Gen, den sogenannten Faktor V Leiden, als molekularbiologische Grundlage für dieses Laborphänomen (Bertina et al. 1994).

Die Hyperkoagulabilität der Patienten mit der Faktor-V-Leiden-Mutation hat 2 Ursachen (Nicolaes u. Dahlbäck 2002):

- aktivierter Faktor V Leiden wird durch APC langsamer inaktiviert,
- intakter Faktor V dient als Cofaktor zur Inaktivierung der Faktoren VIIIa und Va. Patienten mit der Faktor-V-Leiden-Mutation haben daher eine verminderte antikoagulatorische Aktivität des APC gegenüber den Faktoren Va und VIIIa.

In Einzelfällen kann eine APC-Resistenz durch andere Mutationen im Faktor-V-Gen (Faktor V Liverpool, Faktor V Cambridge) bedingt sein (Steen et al. 2004; Williamson et al. 1998).

### Erworbene APC-Resistenz

Die Resistenz gegenüber APC kann auch in Abwesenheit molekularbiologischer Veränderungen im Faktor-V-Gen auftreten und wird dann als erworbene APC-Resistenz bezeichnet. Ob die erworbene APC-Resistenz, wie sie bei Patienten mit zerebraler arterieller Verschlusskrankheit, Venenthrombose, Malignom oder Antiphospholipidantikörpersyndrom oder auch während der Schwangerschaft beschrieben wurde (Fisher et al. 1996; Van der Bom et al. 1996; Haim et al. 2001), von klinischer Bedeutung ist, ist unklar. Auch die Einnahme östrogenhaltiger oraler Kontrazeptiva, die ein erhöhtes venöses Thromboserisiko vermitteln, kann mit einer APC-Resistenz einhergehen.

### Faktor V Leiden

Die heterozygote Faktor-V-Leiden-Mutation kommt bei ca. 5–8% der kaukasischen Bevölkerung vor. Die Prävalenz der Faktor-V-Leiden-Mutation ist im Norden Europas deutlich höher. Bei Schwarzafrikanern oder Asiaten ist die Mutation selten (Rees et al. 1995). Die homozygote Faktor-V-Leiden-Mutation ist sehr selten.

> **!** **Die Faktor-V-Leiden-Mutation ist der häufigste unter den bislang bekannten angeborenen Thromboserisikofaktoren und wird bei 24–37% der Patienten mit venöser Thromboembolie nachgewiesen. Etwa die Hälfte aller Patienten, bei denen eine familiäre Thromboseneigung vorliegt, ist Träger dieser Mutation.**

Die Faktor-V-Leiden-Mutation ist aufgrund ihrer hohen Prävalenz der bedeutendste angeborene Risikofaktor für die Venenthrombose. Die Prävalenz ist bei Patienten mit Lungenembolie deutlich geringer als bei Patienten mit einer tiefen Beinvenenthrombose. In der nordamerikanischen Physicians Health Study erlitten 12% der heterozygoten Träger der Mutation eine venöse Thromboembolie, aber nur 6% der Patienten ohne Faktor-V-Leiden-Mutation (Ridker et al. 1997). In der Leiden Thrombophilia Study erlitten 21% der Patienten mit APC-Resistenz eine Venenthrombose, aber nur 5% der Kontrollpersonen (Koster et al. 1993).

In der Longitudinal Investigation of Thromboembolism Etiology Study (LITE), einer prospektiven Kohortenstudie an über 21.000 älteren Menschen, hatten Träger der heterozygoten Faktor-V-Leiden-Mutation ein 3,7-fach erhöhtes Risiko für eine erste venöse Thromboembolie (Cushman et al. 2004). Die Leiden Thrombophilia Study fand ein etwa 8-fach erhöhtes Risiko für eine erste Venenthrombose bei heterozygoten Trägern der Mutation und ein ca. 80-fach erhöhtes Risiko bei homozygoten Trägern der Mutation (Koster et al. 1993). Die Faktor-V-Leiden-Mutation bedingt auch ein erhöhtes Risiko für zerebrale oder abdominelle Venenthrombosen.

Das durch die Faktor-V-Leiden-Mutation verursachte Thromboserisiko wird durch andere Risikofaktoren erhöht. Östrogenhaltige orale Kontrazeptiva verursachen ein etwa 4-fach erhöhtes Thromboserisiko. Bei Trägerinnen der heterozygoten Faktor-V-Leiden-Mutation, die östrogenhaltige orale Kontrazeptiva einnehmen, steigt das Thromboserisiko auf das 30-fache (Vandenbroucke et al. 1994).

Das durch die Faktor-V-Leiden-Mutation bedingte Thromboserisiko wird auch durch angeborene Risikofaktoren, wie z. B. einem Antithrombin-, Protein-C- oder Protein-S-Mangel oder der G20210A-Mutation im Prothrombingen, weiter erhöht (Van Boven et al. 1996; Koeleman et al. 1994; Zoller et al. 1995). Träger beider Mutationen in heterozygoter Ausprägung haben ein 20-fach erhöhtes Risiko für eine erste Venenthrombose (Emmerich et al. 2001).

Hohe Faktor-VIII-Spiegel oder die Hyperhomozysteinämie verstärken das durch die Faktor-V-Leiden-Mutation verursachte Thromboserisiko (Lensen et al. 2001; Ridker et al. 1997). Das durch Schwangerschaft bedingte Thromboserisiko wird durch die Faktor-V-Leiden-Mutation etwa verdreifacht (von 1:1.400 auf 1:400 bis 1:500). Das Risiko für postoperative venöse Thromboembolien wird durch die Faktor-V-Leiden-Mutation nicht erhöht.

Es ist ungeklärt, ob das Risiko für rezidivierende venöse Thromboembolien bei Patienten mit heterozygoter Faktor-V-Leiden-Mutation erhöht ist (Simioni et al. 1997; Eichinger et al. 2002). Aufgrund der derzeitigen Studienlage kann davon ausgegangen werden, dass das Rezidivrisiko bei diesen Patienten, wenn überhaupt, nur geringfügig höher ist. Das Rezidivrisiko der Patienten mit einer homozygoten Faktor-V-Leiden-Mutation dürfte deutlich höher sein.

Derzeit gibt es keine gesicherten Anhaltspunkte, dass die Faktor-V-Leiden-Mutation ein erhöhtes Risiko für arterielle Thromboembolien verursacht (Ridker et al. 1995; Juul et al. 2002). Dies dürfte, wenn überhaupt, nur für bestimmte Patientengruppen, wie z. B. für junge Patienten, Frauen oder Raucher zutreffen.

### Prothrombinmutation (Faktor II G20210A)

Poort beschrieb 1996 eine Punktmutation in der 3' nicht translatierten Region des Prothrombingens (Glutamin zu Arginin an Position 20210; Poort 1996). Träger dieser Mutation haben erhöhte Prothrombinspiegel und eine erhöhte In-vitro-Thrombingenerierung.

> **! Die Prothrombinmutation ist nach der Faktor-V-Leiden-Mutation der häufigste angeborene Risikofaktor für die venöse Thromboembolie.**

Die Prävalenz der Prothrombinmutation liegt in der Bevölkerung Nord- und Zentraleuropas bei etwa 1–2% und kommt im Süden Europas etwas häufiger vor (Rosendaal et al. 1998). Sie ist bei Schwarzafrikanern und Asiaten äußerst selten.

Die Prothrombinmutation lässt sich bei etwa 5–10% der Patienten mit venöser Thromboembolie nachweisen. In der Leiden Thrombophilia Study waren 6,2% der Patienten mit einer Venenthrombose Träger dieser Mutation, aber nur 2,3% der Kontrollpersonen. Die Prothrombinmutation bewirkt ein ca. 3-fach erhöhtes Risiko für eine erste Venenthrombose (Poort et al. 1996). Es ist unklar, ob die Prothrombinmutation einen Risikofaktor für rezidivierende venöse Thromboembolien darstellt (Simioni et al. 2000; Eichinger et al. 1999). Wenn überhaupt, ist das Rezidivrisiko allerdings nur geringfügig erhöht.

Tritt die Prothrombinmutation zusammen mit der Faktor-V-Leiden-Mutation auf, wird das Risiko für eine erste Venenthrombose auf das 20-fache (Emmerich et al. 2001) und das Rezidivrisiko auf das 4-fache erhöht (Christiansen et al. 2005). Die Prothrombinmutation steigert das Risiko für eine Venenthrombose während der Schwangerschaft (Grandone et al. 1998). Sie ist zudem ein bedeutender Risikofaktor für zerebrale Venenthrombosen, v. a. in Kombination mit östrogenhaltigen oralen Kontrazeptiva (Martinelli et al. 1998).

Ob die Prothrombinmutation ein erhöhtes Risiko für arterielle Thrombosen darstellt, ist strittig. Am ehesten könnte die Prothrombinmutation bei der zerebralen arteriellen Verschlusskrankheit bei jüngeren Patienten von Bedeutung sein (Smiles et al. 2002).

### Erhöhte Plasmaspiegel von Gerinnungsfaktoren

#### Fibrinogen

Die Hyperfibrinogenämie dürfte in erster Linie bei älteren Personen ein geringfügig erhöhtes Risiko für eine erste Venenthrombose vermitteln. Sie bedingt ein 1,7-fach erhöhtes Risiko für das Auftreten von Rezidivvenenthrombosen und ist auch ein Risikofaktor für arterielle Thrombosen im koronaren und zerebralen Stromgebiet (Christiansen et al. 2005; Zakai et al. 2007).

#### Prothrombin

Während erhöhte Prothrombinspiegel ein erhöhtes Risiko für eine erste Venenthrombose vermitteln (Poort et al. 1996), ist ungeklärt, ob eine Assoziation zwischen hohen Prothrombinspiegeln und dem Risiko für arterielle Thrombosen besteht.

#### Faktor VII, Faktor X

Bislang gibt es keine sicheren Hinweise für eine Assoziation zwischen erhöhten Faktor-VII- oder Faktor-X-Spiegeln und dem Risiko für Venenthrombosen. Während hohe Faktor-X-Spiegel nicht mit einem erhöhten Risiko für arterielle Thromboembolien assoziiert sind, ist die Datenlage für hohe Faktor-VII-Spiegel im Hinblick auf ein möglicherweise erhöhtes arterielles Thromboserisiko strittig (Tracy et al. 1999).

### Faktor VIII

**Hohe Faktor-VIII-Spiegel sind mit einem deutlich erhöhten Risiko für venöse Thromboembolien assoziiert.**

Koster und Mitarbeiter (1995) fanden bei Patienten mit einem Faktor-VIII-Spiegel über 150% ein etwa 5-fach erhöhtes Risiko für eine erste Venenthrombose. In der Leiden Thrombophilia Study betrug die Prävalenz des hohen Faktor VIII ca. 25%. Der hohe Faktor VIII ist somit einer der häufigsten Risikofaktoren für venöse Thromboembolien. Es ist nach wie vor unklar, ob es sich beim hohen Faktor VIII um eine angeborene oder erworbene Gerinnungsstörung handelt.

Der hohe Faktor VIII ist einer der stärksten Risikofaktoren für die Rezidivvenenthrombose. Eine Studie aus Österreich zeigt, dass Patienten mit hohem Faktor VIII ein 7-fach erhöhtes Risiko für das Wiederauftreten von Venenthrombosen haben (Kyrle et al. 2000).

Hohe Faktor-VIII-Spiegel sind auch ein Risikofaktor für arterielle Thrombosen. So hatten in der Atherosclerosis Risk in Communities Study (ARIC), einer prospektiven Kohortenstudie an über 14.000 Personen, jene Patienten mit hohen Faktor-VIII-Spiegeln eine erhöhte Inzidenz für koronare Herzkrankheit.

### Faktor IX

**Personen mit einem Faktor-IX-Plasmaspiegel von über 129% haben ein 2- bis 3-fach erhöhtes Risiko für eine erste Venenthrombose (Van Hylckama Vlieg et al. 2000). Das Thromboserisiko wird durch das gleichzeitige Vorhandensein hoher Faktor-VIII-Spiegel weiter erhöht.**

Der hohe Faktor IX ist auch ein Risikofaktor für das Wiederauftreten venöser Thromboembolien (Weltermann et al. 2003). Im Vergleich zum hohen Faktor VIII ist das Rezidivrisiko bei diesen Patienten aber deutlich geringer. Bislang gibt es keinen Hinweis, dass erhöhte Faktor-IX-Spiegel mit einer erhöhten Inzidenz arterieller Thrombosen einhergehen.

### Faktor XI

**Personen mit einem Faktor-XI-Spiegel von über 121% haben ein 2-fach erhöhtes Risiko für eine erste Venenthrombose.**

Hohe Faktor XI-Spiegel beeinflussen das Rezidivrisiko der venösen Thromboembolie nur unwesentlich. Bei Männern wurde ein Zusammenhang zwischen hohen Faktor-XI-Spiegeln und einem erhöhten Risiko für arterielle Thrombosen beschrieben (Doggen et al. 2006).

### Faktor XII

Während niedrige Faktor-XII-Spiegel kein erhöhtes Risiko für venöse Thromboembolien vermitteln, scheint bei Männern das Risiko für arterielle Thrombosen mit fallenden Faktor-XII-Spiegeln anzusteigen (Doggen et al. 2006).

## Literatur

Ambruso DR, Leonard BD, Bies RD et. al. (1982) Antithrombin III deficiency: decreased synthesis of a biochemically normal molecule. Blood 60: 78

d'Angelo A, Vigano-DÁngelo S, Esmon CT et al. (1988) Acquired deficiencies of protein S. Protein S activity during oral anticoagulation, in liver disease, and in disseminated intravascular coagulation. J Clin Invest 81: 1445

d'Angelo S, Comp PC, Esmon CT et al. (1986) Relationship between protein C antigen and anticoagulant activity during oral anticoagulation and in selected disease states. J Clin Invest 77: 416

Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF et al.; Recombinant human protein C Worldwide Evaluation in Severe Sepsis (PROWESS) study group (2001) Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. N Engl J Med 344: 699–709

Bertina RM (2000) Protein C deficiency and venous thrombosis – the search for the second genetic defect. Thromb Haemost 83: 360–1

Bertina RM, Koeleman BPC, Koster T et al. (1994) Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. Nature 369: 64

Bertina RM, Broekmans AW, Krommenhoek-van Es C et al. (1984) The use of a functional and immunologic assay for plasma protein C in the study of the heterogeneity of congenital protein C deficiency. Thromb Haemost 51: 1

Bock SC, Harris JF, Balazs I et. al. (1985) Assignment of the human antithrombin III structural gene of chromosome 1q23-q25. Cytogenet Cell Genet 39: 67

Boerger LM, Morris PC, Thurnau GR et al. (1987) Oral contraceptives and gender affect protein S status. Blood 69: 692

Broekmans AW, Bertina RM, Reinalda-Poot J et al. (1985) Hereditary protein S deficiency and venous thromboembolism. A study in three Dutch families. Thromb Haemost 53: 273

Branson HE, Katz J, Marble R et al. (1983) Inherited protein C deficiency and coumarin-responsive chronic relapsing purpura fulminans in a newborn infant. Lancet 2: 1165

Brouwer JL, Veeger NJ, van der Schaaf W et al. (2005) Difference in absolute risk of venous and arterial thrombosis between familial protein S deficiency type I and type III. Results from a family cohort study to assess the clinical impact of a laboratory test-based classification. Br J Haematol 128: 703

de Bruijn SF, Stam, J, Koopman mm et al. (1998) Case-control study of risk of cerebral sinus thrombosis in oral contraceptive users and in carriers of hereditary prothrombotic conditions. The Cerebral Venous Sinus Thrombosis Study Group. BMJ 316: 589

Candrina R, Goppini A, Salvi A et al. (1986) Arterial thrombosis in antithrombin III deficiency. Clin Lab Haematol 8: 267

Christiansen SC, Cannegieter SC, Koster T, Vandenbroucke JP, Rosendaal FR (2005) Thrombophilia, clinical factors, and recurrent venous thrombotic events. JAMA 293: 2352–61

Clouse LH, Comp PC (1986) The regulation of hemostasis: The protein C system. N Engl. J Med 314: 1298

Comp PC, Nixon R, Cooper MR (1984) Familial protein S deficiency is associated with recurrent thrombosis. J Clin Invest 74: 2082

Comp PC, Thurnau GR, Welsh J et al. (1986) Functional and immunologic protein S levels are decreased during pregnancy. Blood 68: 881

Conard J, Bauer KA, Gruber A et al. (1993) Normalization of markers of coagulation activation with a purified protein C concentrate in adults with homozygous protein C deficiency. Blood 82: 1159

Cushman M, Tsai AW, White RH, Heckbert SR, Rosamond WD, Enright P, Folsom AR (2004) Deep vein thrombosis and pulmonary embolism in two cohorts: the longitudinal investigation of thromboembolism etiology. Am J Med 117: 19–25

Dahlbäck B, Carlsson M, Svensson PJ (1993) Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C. Proc Natl Acad Sci USA 90: 1004–8

Damus PS, Wallace GA (1975) Immunologic measurement of antithrombin III-heparin cofactor and alpha2 macroglobulin in disseminated intravascular coagulation and hepatic failure coagulopathy. Thromb Res 6: 27

De Stefano V, Mastrangelo S, Schwarz HP, Pola P, Flore R, Bizzi B, Leone G (1993) Replacement therapy with a purified protein C concentrate during initiation of oral anticoagulation in severe protein C congenital deficiency. Thromb Haemost. 70: 247–9

Demers C, Ginsberg JS, Hirsh J et al. (1992) Thrombosis in antithrombin-III-deficient persons. Report of a large kindred and literature review. Ann Intern Med 116: 754

Demers C, Henderson P, Blajchman MA et al. (1993) An antithrombin III assay based on factor Xa inhibition provides a more reliable test to identify congenital antithrombin III deficiency than an assay based on thrombin inhibition. Thromb Haemost 69: 231

Doggen CJ, Rosendaal FR, Meijers JC (2006) Levels of intrinsic coagulation factors and the risk of myocardial infarction among men: Opposite and synergistic effects of factors XI and XII. Blood 108: 4045–51

Dreyfus M, Magny JF, Bridey F et al. (1991) Treatment of homozygous protein C deficiency and neonatal purpura fulminans with a purified protein C concentrate. N Engl J Med 325: 1565

Dykes AC, Walker ID, McMahon AD et al. (2001) A study of Protein S antigen levels in 3788 healthy volunteers: influence of age, sex and hormone use, and estimate for prevalence of deficiency state. Br J Haematol 113: 636

Egeberg O (1965) Inherited antithrombin deficiency causing thrombophilia. Thromb Diath Haemorrh 13: 516

Eichinger S, Weltermann A, Mannhalter C, Minar E, Bialonczyk C, Hirschl M, Schonauer V, Lechner K, Kyrle PA (2002) The risk of recurrent venous thromboembolism in heterozygous carriers of factor V Leiden and a first spontaneous venous thromboembolism. Arch Intern Med 162: 2357–60

Eichinger S, Minar E, Hirschl M et al. (1999) The risk of early recurrent venous thromboembolism after oral anticoagulant therapy in patients with the G20210A transition in the prothrombin gene. Thromb Haemost 81: 14

Emmerich J, Rosendaal FR, Cattaneo M, Margaglione M, De Stefano V, Cumming T, Arruda V, Hillarp A, Reny JL (2001) Combined effect of factor V Leiden and prothrombin 20210A on the risk of venous thromboembolism – pooled analysis of 8 case-control studies including 2310 cases and 3204 controls. Study Group for Pooled-Analysis in Venous Thromboembolism. Thromb Haemost 86: 809–16

Engesser L, Broekmans AW, Briet E et al. (1987) Hereditary protein S deficiency: Clinical manifestations: Ann Intern Med 106: 677

Esmon CT (1992) Protein S and protein C. Biochemistry, physiology, and clinical manifestation of deficiencies. Trends Cardiovasc Med 2: 214

Feinbloom D, Bauer KA (2005) Assessment of hemostatic risk factors in predicting arterial thrombotic events. Arterioscler Thromb Vasc Biol 25: 2043–53

Fisher M, Fernandez JA, Ameriso SF, Xie D, Gruber A, Paganini-Hill A, Griffin JH (1996) Activated protein C resistance in ischemic stroke not due to factor V arginine 506 glutamine mutation. Stroke 27: 1163–6

Foster DS, Yoshitake S, Davie EW (1985) The nucleotide sequence of the gene for human protein C. Proc Natl Acad Sci USA 82: 4673

Gandrille S, Borgel D, Sala N et al. (2000) Protein S deficiency: a database of mutations-summary of the first update. Thromb Haemost 84: 918

Gandrille S, Borgel D, Eschwege-Gufflet V et al. (1995) Identification of 15 different candidate causal point mutations and 3 polymorphisms in 19 patients with protein S deficiency using a scanning method for the analysis of the protein S active gene. Blood 85: 130

Gerson WT, Dickerman JD, Bovill EG et al. (1993) Severe acquired protein C deficiency in purpura fulminans associated with disseminated intravascular coagulation: Treatment with protein C concentrate. Pediatrics 91: 418

Girolami A (1987) The incidence of thrombotic manifestations in AT III abnormalities. Thromb Haemost 57: 123

Grandone E, Margaglione M, Colaizzo D, D´Andrea G, Cappucci G, Brancaccio V, Di Minno G (1998) Genetic susceptibility to pregnancy-related venous thromboembolism: roles of factor V Leiden, prothrombin G20210A, and methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutations. Am J Obstet Gynecol 179: 1324–8

Griffin JH, Evatt B, Zimmermann TS, Kleiss AJ (1981) Deficiency of protein C in congenital thrombotic disease. J Clin Invest 68: 1370–3

Haim N, Lanir N, Hoffman R, Haim A, Tsalik M, Brenner B (2001) Acquired activated protein C resistance is common in cancer patients and is associated with venous thromboembolism. Am J Med 110: 91–6

Hayashi T, Nishioka J, Shigekiyo T et al. (1994) Protein S Tokushima: abnormal molecule with substitution of Glu for Lys-155 in the second epidermal growth factor-like domain of protein S. Blood 83: 683

Juul K, Tybjaerg-Hansen A, Steffensen R, Kofoed S, Jensen G, Nordestgaard BG (2002) Factor V Leiden: The Copenhagen City Heart Study and 2 meta-analyses. Blood 100: 3–10

Kauffmann RH, Veltkamp JJ, Van Tilburg NH, Van Es LA (1978) Acquired antithrombin III deficiency and thrombosis in the nephrotic syndrome. Am J Med 65: 607

Koeleman BPC, Reitsma PH, Bertina RM (1997) Familial thrombophilia: A complex genetic disorder. Semin Hematol 34: 256

Koeleman BP, Reitsma PH, Allaart CF, Bertina RM (1994) Activated protein C resistance as an additional risk factor for thrombosis in protein C-deficient families. Blood 84: 1031–5

Koster T, Blann AD, Briet E, Vandenbroucke JP, Rosendaal FR (1995) Role of clotting factor VIII in effect of von Willebrand factor on occurrence of deep-vein thrombosis. Lancet 345: 152–5

Koster T, Rosendaal FR, de Ronde H, Briet E, Vandenbroucke JP, Bertina RM (1993) Venous thrombosis due to poor anticoagulant response to activated protein C: Leiden Thrombophilia Study. Lancet 342: 1503–6

Kyrle PA, Minar E, Hirschl M et al. (2000) High plasma levels of factor VII and the risk of recurrent venous thromboembolism. N Engl J Med 343: 457–62

Lane DA, Bayston T, Olds RJ et al. (1997) Antithrombin mutation database: 2nd (1997) update. For the Plasma Coagulation Inhibitors Subcommittee of the Scientific and Standardization Committee of the Internationel Society on Thrombosis and Haemostasis. Thromb Haemost 77: 197

Lane DA, Mannucci PM, Bauer KA et al. (1996) Inherited thrombophilia, Part 1. Thromb Haemost 76: 651

Lechner K, Kyrle PA. (1995) Antithrombin III concentrates – Are they clinically useful? Thromb Haemost 73: 340

Legnani C, Cini M, Cosmi B, Mattarozzi S, Lo Manto G, Palareti G (2004) Oral contraceptive use in women with poor anticoagulant response to activated protein C but not carrying the factor V Leiden mutation increases the risk of venous thrombosis. Thromb Haemost 91: 712–8

Lensen R, Bertina RM, Vancenbroucke JP, Rosendaal FR (2001) High factor VIII levels contribute to the thrombotic risk in families with factor V Leiden. Br J Haematol 114: 380

Lind B, Johnson A, Thorsen S (1997) Naturally occurring Arg−1 to His mutation in human protein C leads to aberrant propeptide processing and secretion of dysfunctional protein C. Blood 89: 2807
Maclean PS, Tait RC (2007) Hereditary and acquired antithrombin deficiency: epidemiology, pathogenesis and treatment options. Drugs 67: 1429–40
Mahasandana C, Suvatta V, Marlar RA et al. (1990) Neonatal purpura fulminans associated with homozygous protein S deficiency. Lancet 335: 61
Mammen EF (1998) Antithrombin: Its physiological importance and role in DIC. Semin Thromb Hemost 24: 19
Martinelli I, Sacchi E, Landi G et al. (1998) High risk of cerebral vein thrombosis in carriers of a prothrombin gene mutation and in users of oral contraceptives. N Engl J Med 338: 1793
Martinelli I, Mannucci PM, de Stefano VD et al. (1998) Different risks of thrombosis in four coagulation defects associated with inherited thrombophilia: A study of 150 families. Blood 92: 2353
Mateo J, Oliver A, Borrell M et al. (1997) Laboratory evaluation and clinical characteristics of 2132 consecutive unselected patients with venous thromboembolism – results of the Spanish Multicentric Study on Thrombophilia (EMET-Study). Thromb Haemost 77: 444
McColl MD, Ramsay JE, Tait RC, Walker ID, Mc Call F, Conkie JA, Carty MJ, Greer IA (1997) Risk factors for pregnancy associated venous thromboembolism. Thromb Haemost 78: 1183–8
McGhee WG, Klotz TA, Epstein DJ, Rapaport SI (1984) Coumarin necrosis associated with hereditary protein C deficiency. Ann Intern Med 101: 59
Michiels JJ, Hamulyak K (1998) Laboratory diagnosis of hereditary thrombophilia. Semin Thromb Hemost 24: 309
Miletich JP, Sherman L, Broze GJ Jr (1987) Absence of thrombosis in subjects with heterozygous protein C deficiency. N Engl J Med 317: 991
Mitchell L, Andrew M, Hanna K et al. (2003) Trend to efficacy and safety using antithrombin concentrate in prevention of thrombosis in children receiving l-asparaginase for acute lymphoblastic leukemia. Results of the PAARKA study. Thromb Haemost 90: 235
Mosnier LO, Zlokovic BV, Griffin JH (2007) The cytoprotetive protein C pathway. Blood 109: 3161
Mustafa S, Mannhalter C, Rintelen C et al. (1998) Clinical features of thrombophilia in families with gene defects in protein C or protein S combined with factor V Leiden. Blood Coagul Fibrinolysis 9: 85
Nicolaes GA, Dahlbäck B (2002) Factor V and thrombotic disease: description of a janus-faced protein. Arterioscler Thromb Vasc Biol 22: 530–8
Pabinger I, Schneider B (1996) Thrombotic risk in hereditary antithrombin III, protein C, or protein S deficiency. A cooperative, retrospective study. Gesellschaft fur Thrombose- und Hamostaseforschung (GTH) Study Group on Natural Inhibitors. Arterioscler Thromb Vasc Biol 16: 742–8
Peters C, Casella JF, Marlar RA et al. (1988) Homozygous protein C deficiency: Observations on the nature of the molecular abnormality and the effectiveness of warfarin therapy. Pediatrics 81: 272
Ploos van Amstel HK, van der Zanden AL, Bakker E et al. (1987) Two genes homologous with protein S cDNA are located on chromosome 3. Thromb Haemost 58: 982
Plutzky J, Hoskins JA, Long GL, Crabtree GR (1986) Evolution and organization of the human protein C gene. Proc Natl Acad Sci USA 83: 546
Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH et al. (1996) A common genetic variation in the 3′-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. Blood 88: 3698
Rees DC, Cox M, Clegg JB (1995) World distribution of factor V Leiden. Lancet 346: 1133–4
Reitsma PH (1997) Protein C deficiency: From gene defects to disease. Thromb Haemost 78: 344
Rezende SM, Simmonds RE, Lane DA (2004) Coagulation, inflammation, and apoptosis: different roles for protein S and the protein S-C4b binding protein complex. Blood 103: 1192
Ridker PM, Hennekens CH, Selhub J, Miletich JP, Malinow MR, Stampfer MJ (1997) Interrelation of hyperhomocyst (e)inemia, factor V Leiden, and risk of future venous thromboembolism. Circulation 95: 1777–82
Ridker PM, Hennekens CH, Lindpaintner K, Stampfer MJ, Eisenberg PR, Miletich JP (1995) Mutation in the gene coding for coagulation factor V and the risk of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis in apparently healthy men. N Engl J Med 332: 912–7
Rintala E, Seppala OP, Kotilainen P et al. (1998) Protein C in the treatment of coagulopathy in meningococcal disease. Crit Care Med 26: 965
Rosendaal FR Doggen CJ, Zivelin A et al. (1998) Geographic distribution of the 20210 G to A prothrombin variant. Thromb Haemost 79: 706
Ryan DH, Crowther MA, Ginsberg JS, Francis CW (1998) Relation of factor V Leiden genotype to risk for acute deep venous thrombosis after joint replacement surgery. Ann Intern Med 128: 270–6
Sallah S, Abdallah JM, Gagnon GA (1998) Recurrent warfarin-induced skin necrosis in kindreds with protein S deficiency. Haemostasis 28: 25
Schmidel DK, Tataro AV, Phelps LG et al. (1990) Organization of the human protein S genes. Biochemistry 29: 7845
Schwarz HP, Fischer M, Hopmeier P et al. (1984) Plasma protein S deficiency in familial thrombotic disease. Blood 64: 1297
Seligsohn U, Berger A, Abend M et al. (1984) Homozygous protein C deficiency manifested by massive venous thrombosis in the newborn. N Engl J Med 310: 559
Simioni P, Prandoni P, Lensing AW, Scudeller A, Sardella C, Prins MH, Villalta S, Dazzi F, Girolami A (1997) The risk of recurrent venous thromboembolism in patients with an Arg506-Gln mutation in the gene for factor V (factor V Leiden). N Engl J Med 336: 399–403
Simioni P, Prandoni P, Lensing AW et al. (2000) Risk for subsequent venous thromboembolic complications in carriers of the prothrombin or the factor V gene mutation with a first episode of deep-vein thrombosis. Blood 96: 3329
Simmonds RE, Ireland H, Lane DA et al. (1998) Clarification of the risk for venous thrombosis associated with hereditary protein S deficiency by investigation of a large kindred with a characterized gene defect. Ann Intern Med 128: 8
Simmonds RE, Ireland H, Kunz G et al. (1996) Identification of 19 protein S gene mutations in patients with phenotypic protein S deficiency and thrombosis. Blood 88: 4195
Smiles AM, Jenny NS, Tang Z, Arnold A, Cushman M, Tracy RP (2002) No association of plasma prothrombin concentration or the G20210A mutation with incident cardiovascular disease: results from the Cardiovascular Health Study. Thromb Haemost 87: 614–21
Steen M, Norstrom EA, Tholander AL et al. (2004) Functional characterization of factor V-I1e359Thr: A novel mutation associated with thrombosis. Blood 103: 3381
Svensson PJ Dahlback B (1994) Resistance to activated protein C as a basis for venous thrombosis. N Engl J Med 330: 517–22
Tait RC, Walker ID, Reitsma PH et al. (1995) Prevalence of protein C deficiency in the healthy population. Thromb Haemost 73–87
Tait RC, Walker ID, Perry DJ et.al (1994) Prevalence of antithrombin deficiency in the healthy population. Br J Haematol 87: 106
Thaler E, Lechner K (1981) Antithrombin III deficiency and thromboembolism. In: Prentice CRM (ed) Clinics in Haematology, vol 10. London: Saunders, p 369
Tracy RP, Arnold AM, Ettinger W, Fried L, Meilahn E, Savage P (1999) The relationship of fibrinogen and factors VII and VIII to incident cardiovascular disease and death in the elderly: results from the cardiovascular health study. Arterioscler Thromb Vasc Biol 19: 1776–83

Tripodi A, Mannucci PM (2001) Laboratory Investigation of thrombophilia. Clin Chem 47: 1597–606
Van Boven HH, Reitsma PH, Rosendaal FR, Bayston TA, Chowdhury V, Bauer KA, Scharrer I, Conard J, Lane DA (1996) Factor V Leiden (FV R506Q) in families with inherited antithrombin deficiency. Thromb Haemost 75: 417–21
Vandenbroucke JP, Koster T, Briet E, Reitsma PH, Bertina RM, Rosendaal FR (1994) Increased risk of venous thrombosis in oral-contraceptive users who are carriers of factor V Leiden mutation. Lancet 344: 1453–7
Van der Bom JG, Bots ML, Haverkate F, Slagboom PE, Meijer P, de Jong PT, Hofman A, Grobbee DE, Kluft C (1996) Reduced response to activated protein C is associated with increased risk for cerebrovascular disease. Ann Intern Med 125: 265–9
Van Hylckama Vlieg A, van der Linden IK, Bertina RM, Rosendaal FR (2000) High levels of factor IX increase the risk of venous thrombosis. Blood 15 95: 3678–82
Warren BL, Eid A, Singer P et al. (2001) Caring for the critically ill patient: high-dose antithrombin III in severe sepsis: a randomized controlled trial. JAMA 286: 1869–78
Weenink GH, Kahle LH, Lamping RJ et al. (1984) Antithrombin III in oral contraceptive users and during normotensive pregnancy. Acta Obstet Gynecol Scand 63: 57
Weltermann A, Eichinger S, Bialonczyk C, Minar E, Hirschl M, Quehenberger P, Schonauer V, Kyrle PA (2003) The risk of recurrent venous thromboembolism among patients with high factor IX levels. J Thromb Haemost 1: 28–32
Williamson D, Brown K, Luddington R et al. (1998) Factor V Cambridge. A new mutation (Arg306 to Thr) associated with resistance to activated protein C. Blood 91: 1140
Zauber NP, Stark MW (1986) Successful warfarin anticoagulation despite protein C deficiency and a history of warfarin necrosis. Ann Intern Med 104: 659
Zakai NA, Katz R, Jenny NS, Psaty BM, Reiner AP, Schwartz SM, Cushman M (2007) Inflammation and hemostasis biomarkers and cardiovascular risk in the elderly: the Cardiovascular Health Study. J Thromb Haemost 5: 1128–35
Zöller B, Berntsdotter A, Garcia de Frutos P, Dahlback B (1995) Resistance to activated protein C as an additional genetic risk factor in hereditary deficiency of protein S. Blood 85: 3518–23
Zöller B, Garcia de Frutos P, Dahlbäck B (1995) Evaluation of the relationship between protein S and C4b-binding protein isoforms in hereditary protein S deficiency demonstrating type I and type III deficiencies to be phenotypic variants of the same genetic disease. Blood 85: 3524



## 31.1.2 Antiphospholipidsyndrom

*P. Quehenberger, I. Pabinger-Fasching*



### Einleitung

Das Antiphospholipidsyndrom wird als eine Erkrankung mit arteriellen oder venösen Thrombosen und/oder dem ungeklärten Auftreten von Spontanaborten und/oder Fehlgeburten bei gleichzeitigem Nachweis von Antiphospholipidantikörpern oder eines Lupushemmstoffes definiert. Antiphospholipidantikörper sind gegen Komplexe gerichtet, die aus gerinnungsaktiven Phospholipiden und einem phospholipidbindenden Protein bestehen. Antiphospholipidantikörper, mit der Eigenschaft, die Gerinnungszeiten von phospholipidabhängigen Gerinnungstests zu verlängern, werden als Lupushemmstoffe bezeichnet. Nach venösen und arteriellen Ereignissen wird eine orale Antikoagulation durchgeführt, eine Primärprophylaxe erfolgt nicht. Eine Abortprophylaxe erfolgt mit niedermolekularem Heparin, ggf. in Kombination mit Aspirin.

### Definition

Im Jahr 1983 definierte Graham Hughes erstmals das gemeinsame Auftreten von Thrombosen bzw. von Aborten mit einem Lupusantikoagulans (LA) als eigenständiges Krankheitsbild (Hughes 1993). Das heute als Antiphospholipidsyndrom (APS) bezeichnete Krankheitsbild wurde ursprünglich im Zusammenhang mit einer Autoimmunerkrankung, dem systemischen Lupus erythematodes, beschrieben und sekundäres APS genannt. Für ein APS ohne zugrunde liegende systemische Grunderkrankung wurde die Bezeichnung primäres APS verwendet.

Nach einer heute allgemein akzeptierten Klassifizierung aus dem Jahr 1999 wird das Antiphospholipidsyndrom als eine Erkrankung mit arteriellen bzw. venösen Thrombosen und/oder dem ungeklärten Auftreten von Spontanaborten und/oder Fehlgeburten bei gleichzeitigem Nachweis von Antiphospholipidantikörpern oder eines Lupushemmstoffes definiert (sogenannte Sapporo-Kriterien). Diese Klassifizierung liegt seit 2006 in einer überarbeiteten Version vor. Sie ist in der Tab. 31.1 zusammengefasst.

### Klinik

Es bestehen keine bedeutenden Unterschiede in den klinischen Manifestationen zwischen Personen mit primärem und sekundärem APS. In einer europäischen Multizentrumsstudie konnte allerdings gezeigt werden, dass die Prä-

**Tab. 31.1.** Überarbeitete Kriterien zur Diagnose des APS

| | |
|---|---|
| **Klinische Kriterien** | |
| Thrombosen | Einmalige oder rezidivierende venöse, arterielle oder mikrozirkuläre Thrombosen, unabhängig davon, welches Organ oder Gewebe betroffen ist. |
| Schwangerschaftskomplikationen | Ein oder mehrere ungeklärte Todesfälle von morphologisch unauffälligen Feten nach der 9. Gestationswoche, zumindest eine Geburt vor der 34. Gestationswoche aufgrund einer Eklampsie bzw. einer schweren Präeklampsie oder einer Plazentainsuffizienz.<br>3 oder mehrere ungeklärte, konsekutive Spontanaborte innerhalb der ersten 10 Gestationswochen. |
| **Laborkriterien** | |
| Wiederholter Nachweis eines Lupusantikoagulans | Der Nachweis eines LA im Plasma muss entsprechend den Richtlinien der International Society on Thrombosis and Haemostasis durchgeführt werden.<br>Es müssen 2 oder mehrere Untersuchungen im Abstand von mindestens 12 Wochen positiv sein. |
| Wiederholter Nachweis von Antikardiolipinantikörpern | Gefordert wird der Nachweis von mittel- oder hochtitrigen Antikardiolipin-IgG oder -IgM-Antikörpern im Plasma oder Serum (>40 GPL bzw. MPL oder >99. Perzentile) mittels ELISA.<br>Es müssen 2 oder mehrere Untersuchungen im Abstand von mindestens 12 Wochen positiv sein. |
| Wiederholter Nachweis von Anti-$\beta_2$-Glykoprotein-I-Antikörper | Gefordert wird der Nachweis von mittel- oder hochtitrigen Anti-$\beta_2$GPI-IgG oder -IgM-Antikörpern im Plasma oder Serum (>99. Perzentile) mittels ELISA.<br>Es müssen 2 oder mehrere Untersuchungen im Abstand von mindestens 12 Wochen positiv sein. |
| Die Diagnose eines APS kann gestellt werden, wenn zumindest ein klinisches Kriterium und ein Laborkriterium erfüllt ist. | |

valenz von APS-assoziierten Krankheitsbildern wie Arthritis, Livedo reticularis sowie Thrombo- und Leukopenie bei Personen mit sekundärem APS im Vergleich zu jenen mit primären APS stark erhöht ist (Levine et al. 2002). Siebenmal mehr Frauen als Männer erkranken an sekundärem APS, während beim primären APS eine Ratio von 3,5:1 gefunden wurde.

**! Prinzipiell kann sowohl beim primären als auch beim sekundären APS jedes Organ und Gewebe betroffen sein.**

### Venöse Thromboembolien

Eine tiefe Beinvenenthrombose findet sich bei bis zu 40% aller Personen mit APS. Sie stellt damit die häufigste klinische Manifestation dar (Hughes 1993). Bei fast der Hälfte dieser Personen kommt es zu Lungenembolien. Seltener findet man oberflächliche Thrombophlebitiden der Beine sowie Thrombosen in den Renal-, Mesenterial-, Adrenal- und Retinalvenen.

### Arterielle Verschlusskrankheit

Am häufigsten finden sich transiente ischämische Attacken und Schlaganfälle, v. a. bei Personen jünger als 55 Jahre (Galli et al. 2003). Aufgrund eines sehr hohen Rezidivrisikos ist v. a. für diese Patientengruppe eine möglichst rasche Diagnosestellung relevant.

In prospektiven Studien konnten mittels Ultraschalluntersuchungen Veränderungen (Läsionen, Stenosen und Insuffizienz) v. a. bei Mitralklappen und Aortenklappen mit einer Inzidenz von 40% bei Personen mit APS nachgewiesen werden. Aufgrund der unterschiedlichen Untersuchungstechniken und Beschreibungen der Veränderungen hat man sich allerdings dazu entschieden, die Gruppe der Herzklappenveränderungen nicht in die überarbeiteten Sapporo-Kriterien aufzunehmen.

### Schwangerschaftskomplikationen

Während Spontanaborte üblicherweise am häufigsten in der präembryonalen (vor der 6. Gestationswoche) und embryonalen (6. bis 9. Gestationswoche) Phase auftreten, beobachtet man bei Frauen mit Antiphospholipidantikörpern eine Häufung v. a. während der Fetalperiode (ab der 10. Gestationswoche). Es konnten aber auch bei bis zu 20% der Frauen mit beschriebenen rezidivierenden Aborten vor der 10. Gestationswoche, Antiphospholipidantikörper nachgewiesen werden (Pabinger u. Vormittag 2005). In einer Studie konnte gezeigt werden, dass unbehandelte Frauen mit rezidivierenden Aborten und Antiphospholipidantikörpern ein bis zu 90%iges Risiko eines zukünftigen Abortes aufweisen (Pabinger u. Vormittag 2005).

Es existieren assoziierte Krankheitsbilder, die allerdings nicht in die diagnostischen klinischen Kriterien aufgenommen wurden. Sie sind in Tab. 31.2 aufgelistet.

**! Besonders häufig mit dem APS assoziiert sind die Thrombozytopenie und die Livedo reticularis.**

**Tab. 31.2.** Mit dem Antiphospholipidsyndrom häufig assoziierte Krankheitsbilder

| Manifestationen | Assoziierte Krankheitsbilder |
|---|---|
| Neurologisch | – Transiente zerebrale Ischämie<br>– Migräne<br>– Chorea<br>– vaskuläre Demenz<br>– Amaurosis fugax<br>– Sneddon-Syndrom |
| Nephrologisch | – Niereninfarkt<br>– Niereninsuffizienz<br>– Proteinurie<br>– Hämaturie<br>– nephrotisches Syndrom |
| Gynäkologisch | – HELLP-Syndrom<br>– Präeklampsie<br>– Oligohydramnie |



Bei 20–30% der Patienten mit APS findet man eine chronische, milde Thrombozytopenie. In einer Arbeit aus der Gruppe von de Groot wurde die Hypothese aufgestellt, dass eine Interaktion von $\beta_2$-Glykoprotein I mit der aktivierten A1 Domäne des Von-Willebrand-Faktors durch Anti-$\beta_2$GPI-Antikörper verhindert werden kann (Hulstein et al. 2007). Dadurch kommt es zu einer spontanen Bindung von Thrombozyten an die A1-Domäne, was einerseits eine Thromboseneigung und andererseits eine Thrombozytopenie zur Folge haben könnte.

Die Livedo reticularis, eine netz- oder fleckförmige Rot- oder Blaufärbung am Körperstamm bzw. den Extremitäten, findet sich häufiger bei Patienten mit sekundärem APS. Es liegen, ausgenommen beim seltenen Sneddon Syndrom (Livedo reticularis und rezidivierende Schlaganfälle, v. a. bei jungen Personen), keine prospektiven Studien vor, die ein erhöhtes Thromboserisiko bei Personen mit Livedo reticularis belegen.

## Diagnostik

Die Diagnose eines APS kann gestellt werden, wenn zumindest ein klinisches Kriterium und ein Laborkriterium der derzeit gültigen überarbeiteten Sapporo-Kriterien erfüllt ist (Wilson et al. 1999; Tab. 31.1). Beträgt das zeitliche Intervall zwischen klinischem Krankheitsbild und positivem Labortest weniger als 12 Wochen bzw. mehr als 5 Jahre, sind die Sapporo-Kriterien zur Diagnosestellung allerdings nicht anwendbar. Außerdem findet man bei bis zu 5% der Normalbevölkerung Antiphospholipidantikörper. Innerhalb eines Zeitraums von 12 Monaten wurde bei keinem der positiv getesteten Personen eine Thrombose beobachtet (Lim et al. 2006). Daraus lässt sich schließen, dass das Thromboserisiko bei gesunden Personen mit einem positiven Nachweis entweder eines Lupusantikoagulans oder von Antikardiolipinantikörpern, wahrscheinlich auch von Anti-$\beta_2$GPI-Antikörpern, zumindest sehr gering ist. Eine Austestung von klinisch unauffälligen Personen erscheint daher nicht sinnvoll.

Die Labordiagnostik erfolgt einerseits durch Bestimmung von Antikardiolipinantikörpern bzw. von Anti-$\beta_2$GPI-Antikörpern mittels ELISA (▶ Kap. 69) und andererseits durch den Nachweis eines Lupusantikoagulans mit funktionellen Gerinnungstests. Positive Testergebnisse müssen nach einem Intervall von mindestens 12 Wochen bestätigt werden.

### Lupusantikoagulans

1952 wurde erstmals durch Conley und Hartmann eine Verlängerung der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (APTT) bei Patienten mit systemischen Lupus erythematodes (SLE) beschrieben (Conley u. Hartmann 1952). Aufgrund des gleichzeitigen Bestehens des Lupus erythematodes und dieser antikoagulatorischen Aktivität wurde der Begriff des Lupusantikoagulans (LA) geprägt. Später konnte gezeigt werden, dass das Auftreten eines LA nicht auf Patienten mit SLE beschränkt ist, sondern auch bei Patienten ohne eine andere Grunderkrankung nachweisbar ist.

Aufgrund der bei Gerinnungstests beobachteten antikoagulatorischen Wirkung wurde ursprünglich eine erworbene Blutungsneigung bei diesen Patienten vermutet. Allerdings zeigen betroffene Patienten ein gehäuftes Auftreten von thromboembolischen Komplikationen, sodass heute ein LA als ein erworbener thrombophiler Risikofaktor angesehen wird. Die antikoagulatorische Aktivität eines LA im Gerinnungstest kann polyklonal gebildeten Antikörpern, üblicherweise IgG und IgM, zugeschrieben werden. Basierend auf Beobachtungen, dass es durch Zugabe von Phospholipiden zu LA-positiven Plasmen zu einer Verkürzung der Gerinnungszeiten kommt, wurde angenommen, dass LA-Antikörper gegen gerinnungsaktive Phospholipide gerichtet sind.

Allerdings wurde bereits 1959 postuliert, dass diese Antikörper nicht ausschließlich gegen Phospholipide alleine gerichtet sind, sondern einen Komplex aus Phospholipiden und einem phospholipidbindenden Protein erkennen. Als erstes wurde $\beta_2$-Glykoprotein I ($\beta_2$GPI) als Proteinkomponente in diesem Komplex identifiziert (Levine et al. 2002). Weiterführende Untersuchungen zeigten, dass auch Prothrombin häufig als phospholipidbindendes Protein in diesen Komplexen zu finden ist. Bis heute konnten eine Reihe weiterer Proteinkomponenten nachgewiesen werden, z. B. Protein S, Protein C, Annexin V und hochmolekulares Kininogen. Es scheint allerdings sehr wahrscheinlich, dass v. a. die $\beta_2$GPI-abhängigen LA für ein erhöhtes Thromboserisiko verantwortlich sind.

Die Labordiagnostik des LA sollte nach den derzeitigen Richtlinien des Subcommittee on Lupus Anticoagulant/An-

tiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee (SCC) der International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) stufenweise erfolgen und ist in ► Kap. 69 detailiert beschrieben. Zusammenfassend sind die Eckpunkte der empfohlenen Diagnostik eines LA:

- Verlängerung eines phospholipidabhängigen Gerinnungstests,
- Nachweis der Phospholipidabhängigkeit,
- Ausschluss eines angeborenen oder erworbenen Faktorenmangels und von spezifischen Inhibitoren.

Was die klinische Wertigkeit der einzelnen Tests (ELISA wie auch funktionelle Tests) betrifft, so kommen die Studien zu teilweise recht unterschiedlichen Resultaten. Eine mögliche Ursache dafür liegt sicherlich an der schlechten bzw. gar nicht vorhandenen Standardisierung der verwendeten Methoden.

Im Jahr 2003 wurde eine systematische Zusammenfassung der betreffenden Literatur veröffentlicht (Galli et al. 2003).

**! Demnach stellt ein LA sowohl für venöse als auch für arterielle Thrombosen den stärksten Risikofaktor dar.**

Mittel- bis hochtitrige IgG-Antikardiolipinantikörper stellen nur einen Risikofaktor für arterielle, und Anti-$\beta_2$GPI-Antikörper nur für venöse Thrombosen dar. Auch die prospektive LITE-Studie kam zu dem Ergebnis, dass weder IgG- noch IgM-Antikardiolipinantikörper einen Risikofaktor für venöse Thrombosen darstellen (Cushman et al. 2004).

In einer kürzlich veröffentlichten Studie (Finazzi et al. 2005) zeigte sich jedenfalls, dass zur labordiagnostischen Abklärung eines APS immer die Durchführung eines ganzen »Antiphospholipidantikörperprofils«, also die Bestimmung von LA, Antikardiolipinantikörper und Anti-$\beta_2$GPI-Antikörper, sinnvoll ist, da gezeigt werden konnte, dass Personen mit positiven Resultaten in allen 3 Tests ein stark erhöhtes Risiko für venöse und arterielle Thromboembolien aufweisen, verglichen mit Patienten mit nur zwei oder einem positiven Testergebnis.

### Therapie

Patienten mit Antiphospholipidantikörpern haben ein erhöhtes Risiko für eine Erstmanifestation von Thrombosen und für das Wiederauftreten von Thrombosen nach Beendigung einer Antikoagulanzientherapie. Es besteht die übereinstimmende Meinung, dass eine Primärprophylaxe jedoch nicht indiziert ist, da das individuelle Risiko für das Erstauftreten einer Thrombose letztlich nicht mit hoher Sicherheit angegeben werden kann.

Im Fall eines venösen oder arteriellen thrombotischen Ereignisses sind für die Akuttherapie die üblichen therapeutischen Strategien angezeigt, wie niedermolekulare Heparine bei venösen Thromboembolien, Lyse, Plättchenaggregationshemmer und Heparine bei arteriellen Ereignissen. Für die Verminderung der Rezidivrate wird von den meisten Autoren eine langfristige Gabe von oralen Antikoagulanzien (Vitamin-K-Antagonisten) als die Therapie der Wahl betrachtet.

Eine der wenigen Studien, in die prospektiv auch Patienten mit Antiphospholipidantikörper ohne Antikoagulanzien eingeschlossen waren, ist die Studie von Kearon et al. (1999): 4 von 16 Patienten mit Antiphospholipidantikörpern hatten ohne Antikoagulation ein Rezidiv, während dies nur bei 2 von 61 Patienten ohne diese Antikörper der Fall war. Große Studien, die z. B. Antikoagulation gegen Placebo oder eine offene Kontrollgruppe vergleichen, gibt es nicht. In 2 Studien wurde sehr eindrucksvoll nachgewiesen, dass das Risiko für eine Rezidivthrombose bei INR 2–3 im Vergleich zu INR 2,5–3,5 vergleichbar ist, tendenziell ist das Rezidivrisiko sogar bei den intensiver Antikoagulierten höher (INR=»international noramalized ratio«; Crowther et al. 2003; Finazzi et al. 2005). Daraus können wir mit Sicherheit schließen, dass zumindest bei Patienten mit Erstmanifestation von venösen Thromboembolien eine Antikoagulation mit einer INR von 2,0–3,0 als adäquater Thromboseschutz ausreichend ist. Dies scheint auch für arterielle Thrombosen zu gelten, jedoch ist hier die Patientenzahl in den Studien noch wesentlich geringer als bei Patienten mit venöser Thromboembolie.

Unklar ist die Behandlung von Rezidivthrombosen unter suffizienter Antikoagulation. Infrage käme hier eine Erhöhung der Intensität, bei arteriellen Thrombosen die gleichzeitige Gabe von Plättchenaggregationshemmern und eventuell eine Umstellung auf niedermolekulare Heparine oder für einen begrenzten Zeitraum die zusätzliche Gabe von niedermolekularen Heparinen.

Bei Schwangerschaftskomplikationen als Ausprägung des Antiphospholipidantikörpersyndroms (rezidivierende Aborte, intrauteriner Kindstod, Präeklampsie) wird auch von den meisten Experten die Kombination Heparin mit Aspirin als die optimale angesehen (Pabinger u. Vormittag 2005). Insgesamt beschäftigen sich 3 Studien mit dieser Fragestellung und vergleichen Heparin gegen Heparin plus Acetylsalicylsäure. Zwei Studien erbrachten einen Vorteil der Kombination, während eine Studie den Vorteil für die zusätzliche Gabe von niedermolekularem Heparin im Vergleich zu ASS allein nicht zeigen konnte (Pabinger u. Vormittag 2005).

Sicherlich sind eine Reihe von Fragen in der Therapie des Antiphospholipidantikörpersyndroms noch nicht geklärt. Die Durchführung von Studien ist schwierig, da es sich um eine begrenzte Anzahl von Patienten in den einzelnen Zentren handelt, und Fragestellungen könnten nur mit groß angelegten und multizentrischen Studien beantwortet werden.

Die kontinuierliche Antikoagulation hat sich jedoch bei der Verhinderung von Rezidiven als im Wesentlichen sehr

wirksam erwiesen. Wenn ausschließlich Thromboembolien als Manifestation des Syndroms bestehen, erscheint eine zusätzliche Gabe von Immunsuppressiva nicht indiziert. Diese sind allein dann indiziert, wenn eine Indikation von Seiten der rheumatologischen Grunderkrankung besteht.

Einen Sonderfall stellt das sogenannte »catastrophic antiphospholipid syndrome« dar. Bei diesem Syndrom kommt es zu einer enormen Hyperkoagulabilität mit Organversagen bis hin zu disseminierter intravasaler Gerinnung, oft ausgelöst durch Infektionen bzw. ausgeprägte Autoimmunreaktionen. Es werden bei diesen Patienten Immunsuppression und Antikoagulation angewendet, um die Hyperkoagulabilität und die überschießende Immunreaktion einzudämmen.

## Literatur


British Society for Haematology (2000) Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 109: 704–15

Conley C, Hartmann RC (1952) A hemorrhagic disorder caused by circulating anticoagulant in patients with disseminated lupus erythematosus. J Clin Invest 31: 621–2

Crowther MA, Ginsberg JS, Julian J et al. (2003) A comparison of two intensities of warfarin for the prevention of recurrent thrombosis in patients with the antiphospholipid antibody syndrome. N Engl J Med 349: 1133–8. Erratum in: N Engl J Med 2003; 349: 2577. N Engl J Med 2004; 351: 200

Cushman M, Tsai AW, White RH, Heckbert SR, Rosamond WD, Enright P, Folsom AR (2004) Deep vein thrombosis and pulmonary embolism in two cohorts: the longitudinal investigation of thromboembolism etiology. Am J Med 117: 19–25

Finazzi G, Marchioli R, Brancaccio V et al. (2005) A randomized clinical trial of high-intensity warfarin vs. conventional antithrombotic therapy for the prevention of recurrent thrombosis in patients with the antiphospholipid syndrome (WAPS) J Thromb Haemost 3: 848–53

Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T (2003) Lupus anticoagulants are stronger risk factors for thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: a systematic review of the literature. Blood 101: 1827–32

Harris EN, Asherson RA, Gharavi AE, Morgan SH, Derue G, Hughes GR (1985) Thrombocytopenia in SLE and related autoimmune disorders: association with anti-cardiolipin antibody. Br J Haematol 59: 227–230

Hughes GR (1993) The antiphospholipid syndrome: ten years on. Lancet 342: 341–4

Hulstein JJJ, Lenting PJ, de Laat B, Derksen RHWM, Fijnheer R, de Groot PG (2007) Beta2-glycoprotein I inhibits von Willebrand Factor-dependent platelet adhesion and aggregation. Blood 110: 1483–91

Kearon C, Gent M, Hirsh J et al. (1999) A comparison of three months of anticoagulation with extended anticoagulation for a first episode of idiopathic venous thromboembolism. N Engl J Med 340: 901–7. Erratum in: N Engl J Med 1999, 341: 298

Levine JS, Branch DW, Rauch J (2002) The Antiphospholipid Syndrome. N Engl J Med 346: 752–63

Lim W, Crowther MA, Eikelboom JW (2006) Management of Antiphospholipid Antibody Syndrome. A systematic review. JAMA 295: 1050–7

Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T et al. (2006) International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. J Thromb Haemost 4: 295–306

Pabinger I, Vormittag R (2005) Thrombophilia and pregnancy outcomes. J Thromb Haemost 3: 1603–10

Runchy SS, Folsom AR, Tsai MY, Cushman M, McGovern PD (2002) Anticardiolipin antibodies as a risk factor for venous thromboembolism in a population-based prospective study. Br J Haematol 119: 1005–10

Wilson WA, Gharavi AE, Koike T et al. (1999) International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 42: 1309–11


## 31.1.3 Heparininduzierte Thrombozytopenie (HIT)

*A. Greinacher, N. Lubenow*



### Einleitung

Die heparininduzierte Thrombozytopenie (HIT) ist eine erworbene, prothrombotische, immunologisch bedingte, unerwünschte Arzneimittelwirkung. Betroffene Patienten haben ein hohes Risiko für die Entwicklung von thromboembolischen Komplikationen. Die HIT tritt typischerweise zwischen Tag 5 und 14 der Heparingabe auf.

Neben dem Absetzen von Heparin ist die Antikoagulation mit einem verträglichen Antikoagulans die wichtigste therapeutische Maßnahme. Zugelassen hierfür sind die direkten Thrombininhibitoren Lepirudin und Argatroban sowie das Heparinoid Danaparoid. Der direkte Thrombininhibitor Bivalirudin sowie das Pentasaccharid Fondaparinux sind weitere Therapiealternativen.

Die Entscheidung, welches Antikoagulans im Einzelfall eingesetzt wird, ist abhängig von der klinischen Konstellation, den pharmakokinetischen Eigenschaften und der vor Ort bestehenden Erfahrung sowie von den verfügbaren Monitoringmöglichkeiten.

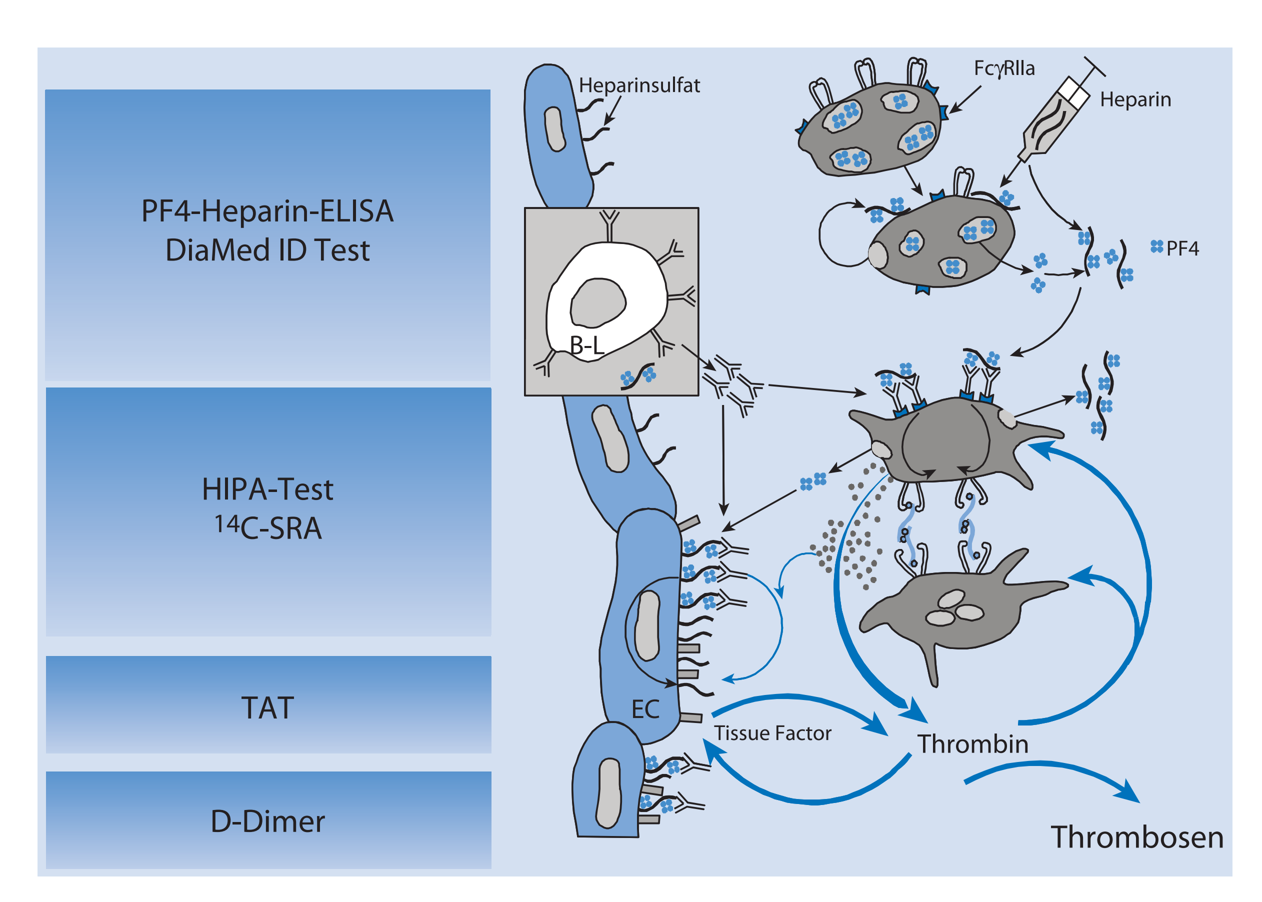
## Pathogenese

Die heparininduzierte Thrombozytopenie (HIT) ist eine der stärksten erworbenen Thrombophilien. Sie wird durch Antikörper induziert, ist zeitlich begrenzt und tritt in einem typischen Zeitfenster während der Gabe von Heparin auf. Als klinisch-pathologisches Syndrom ist die HIT gekennzeichnet durch Thrombozytopenie mit oder ohne thromboembolische Komplikationen sowie dem Nachweis von Antikörpern gegen Plättchenfaktor-4-(PF4-)Heparin-Komplexe (Amiral u. Vissac 2007; Greinacher et al. 2007). Selten sind an der HIT Antikörper gegen andere Antigene, wie Il-8 und NAP-2 beteiligt. Unfraktioniertes Heparin (UFH) induziert Antikörper gegen PF4/Heparin-Komplex häufiger als niedermolekulares Heparin (NMH) bzw. das Pentasaccharid Fondaparinux (Arixtra®; Greinacher et al. 1995; Rauova et al. 2005).

Die Pathogenese der HIT unterscheidet sich von der aller anderen Immunthrombozytopenien (▶ Kap. 30.2), da die Thrombozytopenie nicht durch eine vermehrte Phagozytose antikörperbeladener Thrombozyten im retikuloendothelialen System verursacht wird, sondern durch die intravasale Thrombozytenaktivierung.

Durch die Bindung von HIT-Antikörpern an die Protein-Heparin-Komplexe enstehen multimolekulare Immunkomplexe. Enthalten diese IgG-Antikörper, binden sie an den thrombozytären FcγIIa-Rezeptor. Dies führt zur intravasalen Thrombozytenaktivierung mit nachfolgender Thrombozytopenie sowie Bildung von Thrombozytenmikropartikeln. Zusammen mit Endothelzellaktivierung und Aktivierung von Monozyten mit erhöhter Tissue-Factor-Expression führt dies zur vermehrten Thrombinbildung und damit zu einem erhöhten Risiko für neue venöse und arterielle Gefäßverschlüsse (◘ Abb. 31.1).

Sehr selten werden die Antikörper zu Autoantikörpern, die dann Thrombozyten auch ohne Heparinzugabe aktivie-




◘ **Abb. 31.1.** Pathomechanismus der HIT: Heparin bildet mit Plättchenfaktor 4 einen Komplex, an den HIT-Antikörper binden. HIT-Antikörper der Klasse IgG führen zur Vernetzung des FcγRIIa auf der Thrombozytenoberfläche und damit zu einer Thrombozytenaktivierung. Diese führt zur Mikropartikelbildung und weiterer Freisetzung plättchenaktivierender Substanzen. Es kommt zur Aktivierung der Gerinnungskaskade mit massiver Thrombinbildung. Dies führt zum Thrombozytenabfall und/oder zu thromboembolischen Komplikationen.

Labortests bei der HIT erkennen unterschiedliche Stufen dieses Pathomechanismus. Antigentests (z. B. PF4-Heparin-ELISA) weisen die Antikörper nach, können aber nicht zwischen aktivierenden und nicht aktivierenden Antikörpern unterscheiden. Funktionstests (z. B. HIPA-Test) weisen thrombozytenaktivierende, heparinabhängige Antikörper nach, erlauben jedoch keine Aussage über die Menge an gebildetem Thrombin (dies wird besser anhand der Thrombin-Antithrombin Komplexe bestimmt). Thrombosen können ggf. durch einen D-Dimer-Test ausgeschlossen werden, bei Patienten, bei denen D-Dimer nicht bereits wegen der Grunderkrankung erhöht ist. *HIPA* heparininduzierte Plättchenaktivierung; *SRA* Serotonin-Release-Assay; *TAT* Thrombin-Antithrombin-Komplex

ren (Warkentin u. Kelton 2001a). Diese Patienten zeigen die Symptome einer HIT innerhalb von 2–3 Wochen nach Absetzen des Heparins. Im Labor finden sich bei diesen Patienten typischerweise hochtitrige Antikörper. Dieser Autoimmunprozess kann mehrere Monate anhalten.

Von der immunologischen Form der HIT, die auch als HIT Typ II bezeichnet wird, wird die HIT Typ I abgegrenzt, bei der durch nicht immunologische Mechanismen Heparin zum Abfall der Thrombozytenwerte führt. Die HIT Typ I ist klinisch wenig bedeutsam. Sie tritt meist an Tag 1–2 nach Gabe von UFH mit einem moderaten Thrombozytenabfall (meist weniger als 50%) auf. Sie bedarf keiner spezifischen Therapie, Heparin kann weitergegeben werden. Sie ist pathophysiologisch wenig spezifiziert und wird wahrscheinlich multifaktoriell verursacht.

**Thromboembolische Komplikationen bei der HIT**

- Venöse Thrombosen
  - tiefe Beinvenenthrombosen
  - Lungenembolie
- Arterielle Thrombosen
  - Thrombosen der Beinarterien
  - ischämischer Insult
  - Myokardinfarkt
- Hautläsionen an den Heparininjektionsstellen
  - Hautnekrosen
  - erythematöse Plaques
- Akute systemische Reaktionen nach Heparin
- Disseminierte intravasale Koagulopathie (DIC)

**Abb. 31.2.** Klinische Manifestation von Gefäßverschlüssen und anderen Komplikationen bei der HIT nach ihrer Häufigkeit

### Klinik

> **Die HIT tritt typischerweise zwischen dem 5. und 14. Tag nach Beginn der Heparingabe auf.**

Bei Patienten, die innerhalb der vorhergehenden 3 Monate mit Heparin behandelt wurden, kann sich die HIT aufgrund noch zirkulierender Antikörper sofort manifestieren (Warkentin u. Kelton 2001b; Lubenow et al. 2002). Die Thrombozytenwerte fallen bei der HIT in der Regel innerhalb von 1–2 Tagen um >50%, selten unter 20 Gpt/l.

> **Bei der Beurteilung des relativen Thrombozytenabfalls ist es entscheidend, nicht nur den Ausgangswert *vor* Heparingabe zu berücksichtigen, sondern den höchsten Wert *seit Beginn* der Heparingabe.**

Nach größeren Operationen tritt häufig eine reaktive Thrombozytose auf. Bei einem postoperativen Maximum von beispielsweise 500 Gpt/l ist ein Abfall auf 200 Gpt/l ein wichtiger Hinweis auf eine HIT, obwohl die Thrombozytenwerte noch im Normbereich liegen (relative Thrombozytopenie).

Bis zu 50% der Betroffenen entwickeln eine neue Thrombose im Zusammenhang mit der HIT. Bei einigen Patienten manifestiert sich diese bereits 1–2 Tage vor dem Abfall der Thrombozytenwerte (Greinacher et al. 2005b). Arterielle Gefäßverschlüsse sind deutlich seltener als venöse Gefäßverschlüsse. Anders als sonst im klinischen Alltag sind Verschlüsse der Arterien der Extremitäten häufiger als Schlaganfälle und diese wieder häufiger als Myokardinfarkte. Stark schmerzhafte, zentral nekrotisierende Hautveränderungen sind bei einigen Patienten das erste Zeichen für eine HIT. Selten sind akute systemische Reaktionen wie Hypertonie und Schockreaktion, die typischerweise nach der Heparinbolusgabe bei Patienten mit zirkulierenden HIT-Antikörpern auftreten (Abb. 31.2).

### Inzidenz

Die Inzidenz der klinischen HIT variiert in Abhängigkeit vom verwendeten Heparin und von der Art der Grunderkrankung. In der orthopädischen Chirurgie wird das HIT-Risiko nach großen Gelenkoperationen und Gabe von UFH mit 2,5–3% angegeben (Warkentin et al. 1995; Greinacher et al. 2005). Unter NMH sind weit weniger Patienten betroffen, wahrscheinlich <0,1% (Martel et al. 2005). Bei herzchirurgischen Patienten tritt die HIT v. a. bei denjenigen mit kompliziertem postoperativem Verlauf auf, die auch postoperativ UFH erhalten. Hier kann die Inzidenz der HIT bis zu 2% betragen. In anderen chirurgischen Patientengruppen ist die Inzidenz der HIT niedriger. Generell zeichnet sich ab, dass bei chirurgischen Patienten NMH eine HIT ca. 10-mal seltener induziert als UFH.

Für internistische Patienten ist die Datenlage hinsichtlich der HIT-Inzidenz widersprüchlich (0,05–0,9%). Das Risiko ist niedriger als nach operativen Eingriffen, es sollte jedoch auch hier v. a. bei Patienten unter UFH mit einer HIT gerechnet werden (Girolami et al. 2003). Bei intensivmedizinischen Patienten tritt die HIT mit einer Inzidenz von <1% auf (Selleng et al. 2007). Bis zu 50% der Intensivpatienten haben eine Thrombozytopenie aus anderen Gründen (Lee u. Warkentin 2007), und die meisten erhalten UFH, sodass die HIT eine häufig auszuschließende Differenzialdiagnose ist. Eine Sondergruppe stellen Schwangere dar, die NMH zur Thromboseprophylaxe erhalten, z. B. wegen Thrombosen in der Anamnese. Bei diesen Patientinnen ist die HIT eine Rarität.

### Diagnostik

Die Wahrscheinlichkeit für eine HIT kann mithilfe eines Scoring-Systems abgeschätzt werden. Der sogenannte 4-T-Test hat einen hohen negativ prädiktiven Wert für die HIT bei einem niedrigen Score von 0–3 (Tab. 31.3; Lo et al.

**3-Stufen-Modell zur Risikoeinschätzung bei Patienten mit Anti-PF4-Heparin-Antikörpern**

| | | |
|---|---|---|
| 1. Immunreaktion = Bildung von PF4-Heparin-Antikörpern | → | Vielleicht pathogen (IgG>>IgM/IgA), klinische Bedeutung unklar |
| 2. Thrombozytenaktivierung, Thrombozytopenie, Thrombingenerierung = prokoagulatorisches Syndrom | → | Hohes Risiko für thromboembolische Komplikationen |
| 3. Klinisches Ereignis = neue Thrombose | → | Maximale Gefährdung des Patienten für weitere vital bedrohliche Gefäßverschlüsse |

**Abb. 31.3.** Die Gefährdung des Patienten, bei Anti-PF4-Heparin-Antikörpern neue Komplikationen zu entwickeln, hängt stark vom klinischen Kontext ab

2006). Eine weitere HIT-Diagnostik ist in diesen Fällen nicht notwendig. Bei starkem klinischen Verdacht bzw. einem 4-T-Score >3 sollte ein Antikörpernachweis parallel zu den weiteren klinischen Maßnahmen veranlasst werden. Die verfügbaren Tests (Abb. 31.1) und ihre Interpretation werden in ▸ Kap. 61 beschrieben.

Generell gilt, alle verfügbaren Tests haben eine hohen negativ prädiktiven Wert, jedoch nur einen geringen positiv prädiktiven Wert. In Abb. 31.3 sind verschiedene Szenarien mit unterschiedlicher Gefährdung des Patienten beschrieben.

Da die akute HIT mit einem Risiko von ca. 50% für die Entwicklung einer neuen Thrombose verbunden ist, sollte bei starkem Verdacht auf HIT auch bei asymptomatischen Patienten eine Thrombose sonographisch ausgeschlossen werden (Wallis et al. 1999).

## Differenzialdiagnosen

Grundsätzlich sollte eine Pseudothrombozytopenie ausgeschlossen werden. Andere Immunthrombozytopenien (insbesondere medikamenteninduziert) und die Posttransfusionspurpura zeigen typischerweise ausgeprägtere Thrombozytopenien (<20 Gpt/l).

Die nicht HIT-bedingte massive Lungenembolie ist schwer von der HIT zu unterscheiden, besonders wenn sie im typischen HIT-Zeitfenster von Tag 7–14 auftritt, da bei der ausgeprägten Lungenembolie häufig auch die Thrombozytenwerte >50% abfallen.

Bei Patienten mit Verbrauch der Thrombozyten, z. B. im Rahmen einer Sepsis, fallen die Thrombozytenwerte über einen längeren Zeitraum. Allerdings können diese Patienten zusätzlich eine HIT entwickeln. Dann finden sich oft ein zusätzlicher Abfall der Thrombozytenwerte und bei Patienten mit Nierenersatz-Therapie häufigere Verschlüsse des Hämofilters.

Bei sehr niedrigen Thrombozytenwerten <20 Gpt/l sind andere Ursachen für die Thrombozytopenie viel wahrscheinlicher als eine HIT und der Patient ist blutungsgefährdet!

Ein Thrombozytenabfall unter GP-IIb-IIIa-Inhibitoren ist in nahezu allen Fällen durch diese Medikamente be-

**Tab. 31.3.** Der 4-T-Score* zur Einschätzung der HIT-Wahrscheinlichkeit. (Lo et al. 2006)

| | Score | Wahrscheinlichkeitskriterien | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 2 Punkte | 1 Punkt | 0 Punkte |
| **T**hrombozytopenie | | Niedrigster Wert ≥20 Gpt und >50% Abfall | Niedrigster Wert 10–19 GPT oder 30–50% Abfall | Niedrigster Wert <10 Gpt oder <30% Abfall |
| Tag des Auftretens des **T**hrombozytenabfalls | | Tag 5–10 oder ≤1 bei früherer Heparintherapie (innerhalb der letzten 30 Tage) | Unbekannt, aber könnte zur HIT passen oder >Tag 10 oder ≤Tag 1 bei früherer Heparintherapie (innerhalb der letzten 30–90 Tage) | Tag <5 (keine frühere Heparintherapie) |
| **T**hrombosen oder andere Komplikationen | | Gesicherte neue Thrombose, Hautnekrosen, anaphylaktische Reaktion nach Heparinbolus | Fortschreitende oder rezidivierende Thrombose oder Verdacht auf Thrombose (noch nicht bestätigt) oder nicht nekrotisierende Hautläsionen | Keine Komplikationen |
| Andere (»o**t**her«) Gründe für Thrombozytenabfall | | Keine | Denkbar | Definitiv |
| Summe Wahrscheinlichkeits-Score | | | | |

*Details zur Anwendung des Scoring-Systems unter www.medizin.uni-greifswald.de/transfus/doku/verwendungscoringhit.pdf

dingt und nicht durch eine HIT. Hier sollte eine alternative Antikoagulation vermieden werden, da die Patienten bei extrem niedrigen Thrombozytenwerten blutungsgefährdet sind.

### Therapie

Bei begründetem HIT-Verdacht müssen alle Heparine (auch niedermolekulare Heparine) abgesetzt werden. Die Unterbrechung der Heparintherapie allein ist jedoch nicht ausreichend. Die vermehrte Thrombinbildung erfordert eine Gerinnungshemmung in therapeutischer Dosierung mit einem schnell wirksamen alternativen Antikoagulans auch bei Patienten, die noch keine Thrombose haben (Greinacher et al. 2000; Warkentin et al. 1995; Lubenow et al. 2005; Farner et al. 2001).

Bei geringer Wahrscheinlichkeit für eine HIT kann es sinnvoll sein, die alternative Antikoagulation so lange in prophylaktischer Dosierung durchzuführen, bis das HIT-Testergebnis vorliegt (siehe Übersicht). Liegt keine HIT vor, ist das Blutungsrisiko dieser Patienten mit Thrombozytopenie hoch bedingt durch die alternative Antikoagulation in Kombination mit der Thrombozytopenie.

**Kriterien für die Auswahl und Dosierung alternativer Antikoagulanzien bei HIT**

- Die meisten Erfahrungen bei HIT-Patienten liegen für Danaparoid, Argatroban und Lepirudin vor. Die aktuellen Dosierungsempfehlungen unterscheiden sich jedoch deutlich von denen, die vom Hersteller angegeben werden.
- Bei Nicht-HIT-Patienten existieren die meisten Erfahrungen mit Fondaparinux (Thromboseprophylaxe und -therapie, akutes Koronarsyndrom) und Bivalirudin (perkutane transluminale koronare Angioplastie, PTCA).
- Wegen der starken Hyperkoagulabilität sind bei akuter HIT niedrig dosierte Therapieschemata, die bei Nicht-HIT-Patienten effektiv sind, wie die Thromboseprophylaxe mit Danaparoid oder Fondaparinux wahrscheinlich weniger effektiv.
- Bei normaler Nieren- und Leberfunktion sind die Halbwertszeiten: Bivalirudin < Argatroban < Lepirudin << Fondaparinux < Danaparoid. Dem Vorteil der guten Steuerbarkeit bei kurzer Halbwertszeit steht das Risiko der schnellen Manifestation der Hyperkoagulabilität und der Thrombose bei Therapieunterbrechung entgegen (akute HIT).
- Bei Patienten mit Nierenversagen ist Argatroban einfacher zu steuern und wahrscheinlich sicherer als Hirudin. Bei Danaparoid und Bivalirudin sollte die Dosis um ca. 30% reduziert werden, während Fondaparinux bei diesen Patienten nicht empfohlen wird.
- Bei Leberinsuffizienz und -minderperfusion ist die Halbwertszeit von Argatroban verlängert, während die von Lepirudin, Danaparoid, Fondaparinux und Bivalirudin nicht wesentlich beeinflusst werden. Bei Patienten mit ausgeprägter Leberschädigung sollten allerdings alle Antikoagulanzien in ihrer Dosis reduziert und engmaschig überwacht werden.
- Die direkten Thrombininhibitoren führen zur INR-Erhöhung und stören andere funktionelle Gerinnungstests.
- Bei Patienten mit niedriger klinischer Wahrscheinlichkeit für eine HIT, bei denen keine andere Indikation für eine Vollantikoagulation besteht, ist es wahrscheinlich sicherer (weniger Blutungen!), bis zum Vorliegen der Ergebnisse des HIT-Antikörpertests Danaparoid oder Fondaparinux in prophylaktischer Dosierung zu geben.
- Die HIT ist eine Komplikation, die häufig zu juristischen Auseinandersetzungen führt. Die Dokumentation und Aufklärung des Patienten sollte besonders sorgfältig erfolgen, insbesondere wenn ein für die Behandlung der HIT nicht zugelassenes Präparat verwendet wird.

## Hirudin

Der direkte Thrombininhibitor Lepirudin (Refludan®) ist für die therapeutische Antikoagulation bei HIT mit Thrombose zugelassen. Seine Plasmahalbwertszeit beträgt 1,1–2,0 h nach i.v.-Infusion. Hirudin wird zu über 90% renal eliminiert. Bei Niereninsuffizienz verlängert sich die Halbwertszeit drastisch (Tab. 31.4).

**Dosierung.** Bei Patienten mit normaler Nierenfunktion wird mit einer Dauerinfusion begonnen (0,1 mg/kgKG/h). Bei Verdacht auf Nierenfunktionseinschränkung wird die in Tab. 31.4 dargestellte Dosierung empfohlen.

**Tab. 31.4.** Hirudindosierung bei Niereninsuffizienz

| Kreatinin im Serum | | Lepirudininfusionsrate |
|---|---|---|
| [μmol/l] | [mg/dl] | [mg/kg/h] |
| 90–140 | 1,0–1,58 | 0,05 |
| 140–400 | 1,58–4,52 | 0,01 |
| >400 | >4,52 | 0,005 |

**Monitoring.** Nach Beginn der Lepirudininfusion sollte alle 4 h eine APTT-Bestimmung (Zielbereich: 1,5- bis 2,5-faches des Ausgangswerts/Normalwerts) durchgeführt werden, bis ein Steady-State erreicht ist. Bei APTT-Werten ab ca. 60–70 s (je nach APTT-Reagenz) steigt die APTT nicht mehr proportional zum Plasmaspiegel und Überdosierungen werden nicht erkannt.

**Besonderheiten.** Die Reduktion der Hirudindosis bei Nierenfunktionsstörungen ist kritisch. Die Halbwertszeit verlängert sich bei Niereninsuffizienz dramatisch und kann bei nephrektomierten Patienten bis zu 150 h betragen.

Funktionelle Tests zum Hirudinmonitoring können bei niedrigen Prothrombinspiegeln (bereits bei <50%) falsch hohe Hirudinspiegel suggerieren, eine nicht ausreichende Antikoagulation kann die Folge sein (Lindhoff-Last et al. 2000). In dieser Situation stellen die direkte Bestimmung der Hirudinkonzentration im ELISA oder der chromogene Ecarintest (Zielwert: 0,5–1,5 µg/ml bei therapeutischer Antikoagulation) zuverlässigere Alternativen dar.

Hirudin ist ein Fremdprotein und induziert Antikörper bei bis zu 70% der Patienten. Diese können die Halbwertszeit verlängern. In sehr seltenen Fällen kann bei immunisierten Patienten durch den Hirudinbolus eine anaphylaktische Reaktion ausgelöst werden.

## Argatroban

Argatroban (Argatra®) ist ein synthetischer, kompetitiver Thrombininhibitor, der für die Therapie und Prophylaxe thromboembolischer Komplikationen bei HIT-Patienten zugelassen ist (Lewis u. Hursting 2007).

**Dosierung und Monitoring.** Argatroban hat eine Halbwertszeit von 45 min, seine Elimination erfolgt zu >90% über die Leber und geringfügig renal. Bei Patienten mit normaler Leberfunktion erfolgt eine intravenöse Infusion von 1 µg/kg/min, adjustiert nach der APTT mit dem Zielbereich einer 1,5- bis 3-fach erhöhten APTT. Die APTT-Bestimmung sollte 2 h nach Beginn der Therapie bzw. nach Änderung der Infusionsrate erfolgen. Bei Patienten mit Leberfunktionsstörungen, auch bei verminderter Leberperfusion, z. B. bei Rechtsherzinsuffizienz, sollte die Anfangsdosis auf 0,5 µg/kgKG/min reduziert werden (Lewis u. Hursting 2007).

**Besonderheiten.** Argatroban verändert alle thrombinabhängigen Gerinnungstests. Die INR und die Gerinnungsfaktorkonzentrationen können unter Argatroban nicht sicher bestimmt werden. Dies erschwert die Interpretation der Gerinnungssituation und die Umstellung auf Vitamin-K-Antagonisten (▶ Kap. 51).

## Danaparoid

Danaparoid (Orgaran®) ist ein Heparinoid, das für die Prophylaxe und Therapie von Thrombosen bei HIT zugelassen ist (Chong u. Magnani 2007). Es zeigt v. a. Anti-FXa-Aktivität mit einer Halbwertszeit von ca. 24 h. Die Bioverfügbarkeit von Danaparoid nach s.c.-Gabe beträgt nahezu 100%, Plasmaspiegel sind daher gut vorhersagbar.

**Dosierung.** Für die Thromboseprophylaxe werden 750 Anti-FXa-Einheiten 2- bis 3-mal täglich s.c. gegeben, für die therapeutische Antikoagulation ein Bolus von 2.250 Anti-FXa-Einheiten i.v., gefolgt von 400 E/h für die ersten 4 h, 300 E/h für die nächsten 4 h und einer Erhaltungsdosis von 150–200 E/h (bei KG<50 kg bzw >90 kg muss die Dosis angepasst werden). Da die Pharmakokinetik von Danaparoid zu 30% von der Nierenfunktion abhängig ist, sollte die Dosierung bei stark niereninsuffizienten Patienten um ca. 30% reduziert werden.

**Monitoring.** Ein Monitoring der Therapie wird bei Patienten mit starker Einschränkung der Nierenfunktion, Körpergewicht <50 kg oder >100 kg, lebensbedrohlichen Thrombosen, unerwarteten Blutungskomplikationen oder kritisch kranken Patienten empfohlen. Die Labormethode der Wahl ist die Bestimmung der Anti-FXa-Aktivität. Für die Kalibrierung sollte Danaparoid verwendet werden.

**Besonderheiten.** Danaparoid kann mit HIT-Antikörpern in vitro kreuzreagieren. Diese Kreuzreaktion ist in der Regel klinisch ohne Bedeutung. Wenn sich unter Therapie mit Danaparoid die Thrombozytenwerte nicht erholen oder neue thromboembolische Komplikationen auftreten, sollte ein anderes kompatibles Antikoagulans verwendet werden.

## Fondaparinux

Die Eignung des Pentasaccharids Fondaparinux (Arixtra®) zur Therapie der HIT ist bisher nicht systematisch geprüft. In vitro ist keine Kreuzreaktivität mit HIT-Antikörpern nachweisbar (Savi et al. 2005), sodass auch in vivo keine Kreuzreaktivität zu erwarten ist. Einzelne Patienten wurden erfolgreich mit Fondaparinux behandelt. Bislang ist nur ein Fall einer Fondaparinux-assoziierten HIT beschrieben (Warkentin et al. 2007). Wahrscheinlich war dies einer der seltenen Fälle, in denen die Antikoagulanzientherapie Autoantikörper induziert hat. Da mehrere zugelassene Therapieoptionen für die HIT bestehen, sollten bei der Gabe von Fondaparinux die üblichen Regeln für den Einsatz eines für die Indikation nicht zugelassenen Medikaments berücksichtigt werden (Aufklärung, Dokumentation).

## Bivalirudin

Bivalirudin (Angiox®) ist ein synthetischer direkter Thrombininhibitor mit einer kurzen Halbwertszeit von ca. 25 min.

Seine hirudinähnliche Struktur und klinische Erfahrungen legen seine Eignung als alternatives Antikoagulans bei der HIT nahe. Bivalirudin ist zurzeit nicht zur Behandlung von HIT-Patienten zugelassen. Die Substanz ist bei Nicht-HIT-Patienten mit kardiologischen Interventionen sehr gut untersucht. Es liegen gut definierte Behandlungsschemata für diese Interventionen vor, die für HIT-Patienten übernommen werden können (Campbell et al. 2000). Ebenso wurde Bivalirudin bei Herzoperationen in mehreren Studien untersucht (Koster et al. 2003; Koster et al. 2007).

### Überlappende Gabe von Vitamin-K-Antagonisten

Für die langfristige Antikoagulation nach einer HIT mit Thrombose sind Vitamin-K-Antagonisten Therapie der Wahl.

Mit Phenprocoumon darf bei akuter HIT erst begonnen werden, wenn die Thrombozyten wieder auf ein stabiles Plateau angestiegen sind, und es muss bis zum Erreichen der therapeutischen INR, mindestens aber für 5 Tage mit einem alternativen Antikoagulans überlappt werden.



### Antikoagulation von Patienten mit HIT-Anamnese

> **! Für die Thromboseprophylaxe bei Patienten mit HIT in der Anamnese sind Fondaparinux und Danaparoid geeignet.**

Bei HIT-Patienten sind nach 100 Tagen die HIT-Antikörper in der Regel nicht mehr nachweisbar. Bei Reexposition mit Heparin entwickeln diese Patienten nicht immer wieder eine erneute HIT, und wenn, dann erst ab Tag 5. Patienten ohne zirkulierende HIT-Antikörper können daher kurzzeitig mit Heparin reexponiert werden (Warkentin u. Kelton 2001b; Lubenow et al. 2002). Dies ist die sicherste Form der Antikoagulation wenn diese Patienten Operationen an der Herz-Lungen-Maschine benötigen (Pötzsch et al. 2000; Selleng et al. 2000).

> **! Bei noch zirkulierenden HIT-Antikörpern und dringender Indikation zur Operation an der Herz-Lungen-Maschine können Bivalirudin oder Argatroban verwendet werden.**

### Literatur


Amiral J, Vissac AM (2007) Role of Heparin-dependent antigens in heparin-induced thrombocytopenia. In: Warkentin TE, Greinacher A (eds) Heparin-induced thrombocytopenia, 4rd ed. New York: Marcel Dekker, p 131–147

Campbell KR, Mahaffey KW, Lewis BE, Weitz JI, Berkowitz SD, Ohman EM, Califf RM (2000) Bivalirudin in patients with heparin-induced thrombocytopenia undergoing percutaneous coronary intervention. J Invasive Cardiol 12(Suppl F): 14F–9

Chong BH, Magnani HN (2007) Danaparoid for the treatment of heparin-induced thrombocytopenia. In: Warkentin TE, Greinacher A (eds) Heparin-induced thrombocytopenia, 4rd ed. New York: Marcel Dekker, p 319–343

Farner B, Eichler P, Kroll H, Greinacher A (2001) A comparison of danaparoid and lepirudin in heparin-induced thrombocytopenia. Thromb Haemost 85: 950–7

Girolami B, Prandoni P, Stefani PM, Tanduo C, Sabbion P, Eichler P, Ramon R, Baggio G, Fabris F, Girolami A (2003) The incidence of heparin-induced thrombocytopenia in hospitalized medical patients treated with subcutaneous unfractionated heparin: a prospective cohort study. Blood 101: 2955–9

Greinacher A, Juhl D, Strobel U, Wessel A, Lubenow N, Selleng K, Eichler P, Warkentin TE (2007) Heparin-induced thrombocytopenia: a prospective study on the incidence, platelet-activating capacity and clinical significance of anti-PF4/heparin antibodies of the IgG, IgM, and IgA classes. Thromb Haemost 5(8): 1666–73

Greinacher A, Eichler P, Lietz T, Warkentin TE (2005a) Replacement of unfractionated heparin by low-molecular-weight heparin for postorthopedic surgery antithrombotic prophylaxis lowers the overall risk of symptomatic thrombosis because of a lower frequency of heparin-induced thrombocytopenia. Blood 106: 2921–2

Greinacher A, Farner B, Kroll H, Kohlmann T, Warkentin TE, Eichler P (2005b) Clinical features of heparin-induced thrombocytopenia including risk factors for thrombosis. A retrospective analysis of 408 patients. Thromb Haemost 94: 132–5

Greinacher A, Eichler P, Lubenow N, Kwasny H, Luz M (2000) Heparin-induced thrombocytopenia with thromboembolic complications: meta-analysis of two prospective trials to assess the value of parenteral treatment with lepirudin and its therapeutic aPTT range. Blood 96: 846–51

Greinacher A, Alban S, Dummel V, Franz G, Mueller-Eckhardt C (1995) Characterization of the structural requirements for a carbohydrate based anticoagulant with a reduced risk of inducing the immunological type of heparin-associated thrombocytopenia. Thromb Haemost 74: 886–92

Harder S, Graff J, Klinkhardt U, von Hentig N, Walenga JM, Watanabe H, Osakabe M, Breddin HK (2004) Transition from argatroban to oral anticoagulation with phenprocoumon or acenocoumarol: effects on prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and Ecarin Clotting Time. Thromb Haemost 91: 1137–45

Koster A, Chew D, Grundel M, Bauer M, Kuppe H, Spiess BD (2003) Bivalirudin monitored with the ecarin clotting time for anticoagulation during cardiopulmonary bypass. Anesth Analg 96: 383–6

Koster A, Dyke CM, Aldea G, Smedira NG, McCarthy HL 2nd, Aronson S, Hetzer R, Avery E, Spiess B, Lincoff AM (2007) Bivalirudin during cardiopulmonary bypass in patients with previous or acute heparin-induced thrombocytopenia and heparin antibodies: results of the CHOOSE-ON trial. Ann Thorac Surg 83: 572–7

Lee DH, Warkentin TE (2007) Frequency of heparin-induced thrombocytopenia. In: Warkentin TE, Greinacher A (eds) Heparin-induced thrombocytopenia, 4rd ed. New York: Marcel Dekker, p 67–116

Lewis BE, Hursting MJ (2007) Argatroban therapie in heparin-induced thrombocytopenia. In: Warkentin TE, Greinacher A (eds) Heparin-induced thrombocytopenia, 4rd ed. New York: Marcel Dekker, p 479–408

Lindhoff-Last E, Piechottka GP, Rabe F, Bauersachs R (2000) Hirudin determination in plasma can be strongly influenced by the prothrombin level. Thromb Res 100: 55–60

Lo GK, Juhl D, Warkentin TE, Sigouin CS, Eichler P, Greinacher A (2006) Evaluation of Pretest Clinical Score (*4 T's*) for the Diagnosis of Heparin-Induced Thrombocytopenia in Two Clinical Settings. J Thromb Haemost 4: 759–65

Lubenow N, Kempf R, Eichner A, Eichler P, Carlsson LE, Greinacher A (2002) Heparin-induced thrombocytopenia: temporal pattern of thrombocytopenia in relation to initial use or reexposure to heparin. Chest 122: 37–42

Lubenow N, Eichler P, Lietz T, Greinacher A; HIT Investigators Group (2005) Lepirudin in patients with heparin-induced thrombocytopenia - results of the third prospective study (HAT-3) and a combined analysis of HAT-1, HAT-2, and HAT-3. J Thromb Haemost 3: 2428–36

Martel N, Lee J, Wells PS (2005) Risk of heparin induced thrombocytopenia with unfractionated and low molecular weight heparin thromboprophylaxis: a meta-analysis. Blood 106: 2710–5

Pötzsch B, Klovekorn WP, Madlener K (2000) Use of heparin during cardiopulmonary bypass in patients with a history of heparin-induced thrombocytopenia. N Engl J Med 343: 515

Rauova L, Poncz M, McKenzie SE, Reilly MP, Arepally G, Weisel JW, Nagaswami C, Cines DB, Sachais BS (2005) Ultralarge complexes of PF4 and heparin are central to the pathogenesis of heparin-induced thrombocytopenia. Blood 105: 131–8

Savi P, Chong BH, Greinacher A et al. (2005) Effect of fondaparinux on platelet activation in the presence of heparin-dependent antibodies: a blinded comparative multicenter study with unfractionated heparin. Blood 105: 139–44

Selleng K, Warkentin TE, Greinacher A (2007) Heparin-induced thrombocytopenia in intensive care patients. Crit Care Med 35(4): 1165–7.6

Selleng S, Lubenow N, Wollert H-G, Müllejans B, Greinacher A (2000) Emergency cardiopulmonary bypass in a bilaterally nephrectomized patient with a history of heparin-induced thrombocytopenia: successful reexposure to heparin. Ann Thorac Surg 71: 1041–2

Warkentin TE, Maurer BT, Aster RH (2007) Heparin-induced thrombocytopenia associated with fondaparinux

Warkentin TE, Kelton JG (2001a) Delayed-onset heparin-induced thrombocytopenia and thrombosis. Ann Intern Med 135: 502–6

Warkentin TE, Kelton JG (2001b) Temporal aspects of heparin-induced thrombocytopenia. N Enlg J Med 344: 1286–92

Warkentin TE, Levine MN, Hirsh J, Horsewood P, Roberts RS, Gent M, Kelton JG (1995) Heparin-induced thrombocytopenia in patients treated with low-molecular-weight heparin or unfractionated heparin. N Engl J Med 332: 1330–5

N Engl J Med 356: 2653–5; discussion 2653–5

Wallis DE, Workman DL, Lewis BE, Steen L, Pifarre R, Moran JF (1999) Failure of early heparin cessation as treatment for heparin-induced thrombocytopenia. Am J Med 106: 629–35

## 31.1.4 Venöse Thromboembolie und Schwangerschaft

*I. Pabinger-Fasching*



Venöse Thromboembolien treten mit einer Häufigkeit von ca. einem Ereignis auf 1.000–1.500 Schwangerschaften auf. Sie können in jeder Phase den Schwangerschaftsverlauf komplizieren, insbesondere bei Frauen mit Thrombophilie können Thrombosen und/oder Aborte bereits in der Frühschwangerschaft auftreten. In der postpartalen Phase ist das Risiko einer venösen Thromboembolie am höchsten.

Die Diagnose von Thrombosen während der Schwangerschaft erfolgt im Wesentlichen nach den Richtlinien, die auch außerhalb der Schwangerschaft gültig sind. Bei der Bestimmung der D-Dimere ist zu beachten, dass die Schwangerschaft selbst zu einer Erhöhung der D-Dimere führt.

Nach Sicherung der Diagnose ist unverzüglich eine therapeutische Heparinisierung mit niedermolekularem Heparin oder auch unfraktioniertem Heparin einzuleiten. Es besteht kein eindeutiger Konsens, ob alle Frauen mit einer Vorgeschichte von venösen Thromboembolien eine medikamentöse Thromboseprophylaxe während der Schwangerschaft erhalten sollten. Eine prophylaktische Heparingabe wird bei Frauen mit Thrombophilie und einer Vorgeschichte von spontanen Thrombosen angeraten.

### Einleitung

Die blutungsbedingte Morbidität und Mortalität während der Schwangerschaft sowie peri- und postpartal konnte durch Fortschritte in der Gynäkologie und Geburtshilfe dramatisch reduziert werden. Derzeit sind die wesentlichen schwangerschaftsassoziierten Erkrankungen die venöse Thromboembolie und die Präeklampsie. Es ist bekannt, dass angeborene und erworbene Thromboserisikofaktoren zum erhöhten Risiko für Thromboembolien beitragen, und neuere Studien weisen darauf hin, dass auch andere Schwangerschaftskomplikationen wie Präeklampsie bzw. Aborte und intrauteriner Kindstod mit Thrombophilie in Zusammenhang zu bringen sind.

Venöse Thromboembolien treten mit einer Häufigkeit von ca. einem Ereignis auf 1.000–1.500 Schwangerschaften auf. Sie beschränken sich nicht auf fortgeschrittene Phasen der Schwangerschaft, sondern können, insbesondere bei Frauen mit Thrombophilie, bereits in der Frühschwanger-

schaft den Verlauf komplizieren. In der postpartalen Phase ist das Risiko einer venösen Thromboembolie am höchsten. Der Zeitraum des erhöhten Risikos ist nicht genau bekannt, nach 6 Wochen dürfte aber wieder die Ausgangssituation das Thromboserisiko betreffend erreicht sein.

Bei Frauen mit hereditären Risikofaktoren ist das Thromboserisiko deutlich erhöht. So wurde beim Antithrombinmangel über ein absolutes Risiko von einer Thrombose auf ca. 3 Schwangerschaften (1:2,8), beim Protein-C-Mangel von einer Thrombose auf 113 und bei der Faktor-V-Leiden-Mutation von einer Thrombose auf 437 Schwangerschaften berichtet (McColl et al. 1997).

**! Zur antikoagulatorischen Prophylaxe und Therapie in der Schwangerschaft eignen sich Heparine, sowohl Standardheparin als auch niedermolekulare Heparine, da sie die Plazentaschranke nicht überschreiten und damit mit Sicherheit nicht teratogen sind.**

In den letzten Jahren haben sich die niedermolekularen Heparine in der Prophylaxe und Therapie etabliert. Obwohl es noch kaum randomisierte oder kontrollierte Studien in der Schwangerschaft gibt, können sie als gut wirksam in der Prophylaxe und Therapie venöser thromboembolischer Manifestationen und als sehr sicher mit einer großen therapeutischen Breite bezeichnet werden (Greer et al. 2005). Bei therapeutischen Dosen oder hohem Blutungs- oder Thromboserisiko ist die Bestimmung der Anti-Faktor-Xa-Aktivität zur Überwachung der Therapie zu empfehlen.

**Cave**

Vitamin-K-Antagonisten überschreiten die Plazentaschranke und sind, werden sie in der 6. bis 9. SSW eingenommen, teratogen mit einer Rate von 5–10% Fehlbildungen.

Sie sind daher während der Schwangerschaft grundsätzlich kontraindiziert und werden nur in ganz ausgewählten Fällen (z. B. artifizielle Herzklappen) während der Schwangerschaft gegeben. Wenn bei einer Frau die seltene Komplikation einer heparininduzierten Thrombozytopenie oder schwere allergische Reaktionen allgemein oder an der Haut auftreten, kann alternativ Danaparoid eingesetzt werden. Es ist zu beachten, dass dieses in der Schwangerschaft nicht zugelassen ist, manchmal jedoch die einzig sinnvolle Alternative darstellt. Eine Zusammenfassung der Literaturberichte ist vorhanden (Lindhoff-Last et al. 2005).

Über Fondaparinux bestehen noch sehr wenige klinische Erfahrungen. Wahrscheinlich überschreitet auch diese Substanz nicht die Plazentaschranke. Vor einem Einsatz während der Schwangerschaft muss jedoch immer eine kritische Risikoabwägung erfolgen.

## Schwangerschaftsbedingte venöse Thromboembolien

### Diagnostik

Die Diagnose von Thrombosen während der Schwangerschaft erfolgt im Wesentlichen nach den Richtlinien, die auch außerhalb der Schwangerschaft gültig sind. Bei der Bestimmung der D-Dimere ist zu beachten, dass die Schwangerschaft selbst zu einer Erhöhung führt.

Die klinische Manifestation einer Thrombose während der Schwangerschaft kann dadurch verschleiert werden, dass bestimmte Symptome wie krampfartige Schmerzen im Bereich der unteren Extremitäten oder Schwellungen auch ohne Thrombose vorhanden sein können. Bedingt durch die anatomischen Verhältnisse ist das Auftreten einer venösen Thromboembolie an der linken unteren Extremität wesentlich häufiger als rechts (80% der Thrombosen treten linksseitig auf).

Die Diagnose einer Thrombose kann durch Ultraschall oder auch Phlebographie gestellt werden, bei Verdacht auf Lungenembolie eignen sich Perfusions- und Ventilationsscan, Computertomographie oder Magnetresonanztomographie (MRT). Keine dieser Untersuchungen erreicht eine Strahlenbelastung, die bedenklich für das Kind wäre (Toglia u. Weg 1996).

### Therapie

Nach Sicherung der Diagnose ist unverzüglich eine therapeutische Heparinisierung mit niedermolekularem oder unfraktioniertem Heparin einzuleiten (Tab. 31.5). Die Therapierichtlinien richten sich im Wesentlichen nach den Richtlinien außerhalb einer Schwangerschaft. Das niedermolekulare Heparin ist in therapeutischer Dosierung zu verabreichen, bei unfraktioniertem Heparin soll eine adäquate 1,5- bis 2,5-fache Verlängerung der APTT erzielt werden. Bei längerfristiger Verabreichung therapeutischer Dosen wird in manchen Leitlinien eine Anti-Faktor-Xa-Aktivitätsbestimmung ca. 4 h nach der subkutanen Gabe von niedermolekularem Heparin empfohlen.

Während über die initiale Therapie der schwangerschaftsassoziierten venösen Thromboembolie weitestgehend Konsens besteht, ist es nicht bekannt bzw. untersucht, wie lange die therapeutische Heparinisierung fortgeführt werden soll, oder ob zu einem gewissen Zeitpunkt (z. B. nach 6 Wochen) eine Reduktion der Dosis erfolgen kann (Tab. 31.6).

Greer und Nelson-Piercy (2005) empfehlen die Fortführung einer therapeutischen Heparinisierung bis zur Geburt. Wenn das thromboembolische Ereignis mehr als 6–8 Wochen vor der Geburt aufgetreten ist, kann unmittelbar peri- und postpartal die Heparindosis auf prophylaktische oder halbtherapeutische Dosen reduziert werden. Jedoch sind auch dazu keinerlei Studien und auch nur wenige Berichte in der Literatur bekannt.

**Tab. 31.5.** Therapie bei akuter venöser Thromboembolie während der Schwangerschaft

| Zeitpunkt | Maßnahme |
|---|---|
| **Initiale Therapie** | Therapeutische Dosen von niedermolekularem Heparin (alternativ Standardheparin mit APTT-Monitoring) |
| **Im weiteren Schwangerschaftsverlauf** | |
| Bei proximaler Thrombose oder Lungenembolie | Weiterführung der therapeutischen Heparinisierung bis zur Geburt |
| Bei distaler Thrombose (z. B. Unterschenkel) nach 6–8 Wochen | Evtl. Reduktion auf 75% oder halbtherapeutische Dosis |
| Bei proximaler Thrombose oder Lungenembolie innerhalb 6–8 Wochen vor der Geburt | Präpartal transienter Cavaschirm ist zu erwägen |
| **Bei elektiver Geburt** | Heparinpause über 24 h bei therapeutischer Heparinisierung |
| **Postpartal** | |
| Thrombotisches Ereignis innerhalb von 6–8 Wochen vor der Geburt | Therapeutische oder halbtherapeutische Dosis von niedermolekularem Heparin oder Vitamin-K-Antagonisten über 3 Monate |
| Thrombotisches Ereignis vor 6–8 Wochen vor der Geburt | Prophylaktische Dosis von niedermolekularem Heparin oder Vitamin-K-Antagonisten über 6–8 Wochen |

Wenn das thromboembolische Ereignis unmittelbar vor der Geburt aufgetreten ist, besteht mit größter Wahrscheinlichkeit die Indikation für die Positionierung eines Cavafilters, mit dem das Risiko für massive und eventuell tödliche Lungenembolien herabgesetzt werden kann. Diese Cavaschirme können bis zu 10 Tage nach dem Einsetzen auch wieder entfernt werden (transienter Cavaschirm), also zu einem Zeitpunkt, zu dem nach einer Geburt eine Antikoagulation entweder mit niedermolekularem Heparin oder Vitamin-K-Antagonisten in voller Stärke und ohne erhöhtes Blutungsrisiko gewährleistet werden kann.

Auch über die Dauer der sekundären Thromboseprophylaxe nach einem thromboembolischen Ereignis in der Schwangerschaft herrscht Unklarheit. Zumindest sollte der oben genannte Zeitraum von 6 Wochen bei Ereignissen, die längere Zeit vor der Geburt aufgetreten sind, eingehalten werden. Bei Ereignissen im dritten Trimenon scheint wohl eine Dauer von 3–4 Monaten post partum eine ausreichende Sicherheit vor Rezidivthromboembolien zu gewährleisten.

Möglich sind die Weiterführung der Sekundärprophylaxe mit niedermolekularem Heparin bzw. die Einleitung einer Therapie mit Vitamin-K-Antagonisten (Coumarinderivate). Bei beiden Substanzgruppen kann das Kind gestillt werden, niedermolekulare Heparine treten nicht in die Muttermilch über. Bei Phenprocoumon wurden geringste Dosen in der Muttermilch nachgewiesen, sodass dem Acenocoumarol hier der Vorzug gegeben werden sollte. Beachtet werden sollte die von den pädiatrischen Gesellschaften empfohlene Vitamin-K-Substitution. Bei Kindern, die von mit Vitamin-K-Antagonisten antikoagulierten Frauen voll gestillt werden, wird zuweilen zusätzlich die wöchentliche Gabe von 1 mg Vitamin K zur Sicherstellung einer ausreichenden Vitamin-K-Versorgung empfohlen.

## Medikamentöse venöse Thromboseprophylaxe

### Frauen mit einer Vorgeschichte von venösen Thromboembolien

Es besteht kein eindeutiger Konsens, ob alle Frauen mit einer Vorgeschichte von venösen Thromboembolien eine medikamentöse Thromboseprophylaxe während der Schwangerschaft erhalten sollen. In den VIIIth ACCP Consensus Conference Guidelines über die antithrombotische Therapie wird die Verabreichung von prophylaktischem Heparin nicht routinemäßig empfohlen (Bates et al. 2008). Eine prophylaktische Heparingabe wird jedoch bei Frauen mit Thrombophilie und Vorgeschichte von spontanen Thrombosen angeraten (Tab. 31.6).

### Frauen ohne Vorgeschichte von venösen Thromboembolien

Eine primäre Thromboseprophylaxe bei Frauen ohne Vorgeschichte von Thrombosen ist wohl ausschließlich beim Antithrombinmangel zu empfehlen, da hier ein besonders hohes Risiko für schwangerschaftsassoziierte Thrombosen besteht (Pabinger et al. 1996). In anderen Fällen, wie z. B. bei Nachweis eines kombinierten Thromboserisikofaktors und/oder auffälliger familiärer Thromboseneigung oder bei Nachweis von Antiphospholipidantikörpern, jedoch ohne individuelle Vorgeschichte von Thrombosen, müssen individuelle Entscheidungen getroffen werden, eine allgemeine Empfehlung zur Durchführung einer generellen Thromboseprophylaxe für diese Frauen kann nicht abgegeben werden.

**Tab. 31.6.** Medikamentöse Thromboseprophylaxe bei verschiedenen Patientinnengruppen[a]

| Patientinnengruppen | Prophylaxe während der Schwangerschaft | Prophylaxe post partum |
|---|---|---|
| **Vorgeschichte von Thrombosen[b]** | | |
| Mit Thromboseauslöser | Nein/individuell | Ja |
| Spontan, während Gravidität oder oraler Kontrazeptivamedikation | Ja | Ja |
| **Ohne Thrombosevorgeschichte** | | |
| Antithrombinmangel | Ja | Ja |
| Protein-C- oder Protein-S-Mangel | Nein/individuell | Ja |
| Faktor V Leiden heterozygot | Nein | Ja/individuell |
| Faktor V Leiden homozygot | Ja/individuell | Ja |
| Prothrombin-20210GA-Variation | Nein | Ja/individuell |
| Kombinierte Thrombophilie | Ja/individuell | Ja |
| Lupusantikoagulans | Ja/individuell | Ja |

[a] Dosis der Prophylaxe: Hochrisikodosierung des jeweiligen niedermolekularen Heparins, höhere Dosis bei Antithrombinmangel, Lupusantikoagulans, kombinierter Thrombophilie
[b] Unabhängig von Thrombophilie



### Postpartale Thromboseprophylaxe

Da postpartal das Risiko für venöse Thromboembolien über einen relativ kurzen, aber nicht genau bekannten Zeitraum (wahrscheinlich bis zu 6 Wochen) deutlich erhöht ist, ist eine postpartale Thromboseprophylaxe bei allen Frauen mit einer Vorgeschichte venöser Thromboembolien zu empfehlen. Ebenso besteht weitgehende Übereinstimmung bei Frauen mit angeborenen Verminderungen von natürlichen Inhibitoren (Antithrombin-, Protein-C- oder Protein-S-Mangel) und Frauen mit homozygoter Faktor-V-Leiden-Mutation, weiterhin bei allen Frauen mit kombinierten hereditären Thromboserisikofaktoren. Uneinheitlich wird die primäre Thromboseprophylaxe bei Frauen mit heterozygoten Formen der Faktor-V-Leiden- oder Prothrombinvariation diskutiert. Eine zweifelsfreie Empfehlung bei vaginal entbundenen Frauen ist nicht abzugeben.

Über die Dauer der Thromboseprophylaxe post partum kann nur hypothetisiert werden, da hierzu keinerlei Studiendaten vorhanden sind.

**! Die Phase des erhöhten Risikos kann bei den meisten Frauen mit bis zu 6 Wochen post partum angenommen werden, sodass dies bei Frauen mit deutlich erhöhtem Thromboserisiko als ein adäquater Zeitraum angesehen wird.**

Hierbei handelt es sich jedoch ausschließlich um Expertenmeinungen.

Die Kaiserschnittentbindung ist als zusätzlicher Risikofaktor für das Auftreten von postpartalen venösen Thromboembolien anzusehen. Es wird daher von den meisten Experten für jede Frau während des Krankenhausaufenthalts eine Thromboseprophylaxe empfohlen. Interventionsstudien, die dieses Vorgehen untermauern könnten, fehlen jedoch.

## Geburtshilfliche Komplikationen

### Hereditäre Thrombophilie

Zahlreiche Fallkontrollstudien untersuchten den Einfluss einer Thrombophilie auf Aborte (Kupferminc et al. 1999; Younis et al. 2000; Rai et al. 2001; Rey et al. 2003). Bei den meisten dieser Studien wurden Faktor-V-Leiden-, Prothrombin-G20210A-Variation und die 677CT-Variation im Methyltetrahydrofolatreduktase-(MTHFR-)Gen untersucht. Die größte Studie wurde von Rai et al. (2001) publiziert. Im Gegensatz zu den meisten Fallkontrollstudien konnte in dieser größten Studie keine Assoziation mit rezidivierenden Aborten und Faktor V Leiden gezeigt werden.

Zahlreiche Metaanalysen betrachteten den Zusammenhang zwischen Abort, intrauterinem Kindstod und Thrombophilie. Übereinstimmend wurden Odd-Ratios (OR) von ca. 2 oder mehr für rezidivierende Aborte bei Faktor-V-Leiden-Trägerinnen gefunden. In gleicher Weise erhöhte OR wurden für Trägerinnen der Prothrombinvariation gefunden. Die homozygote MTHFR-Variation (677DT) wurde in Metaanalysen hingegen nicht als Risikofaktor für Ab-

orte verifiziert (Rey et al. 2003). Derzeit gibt es 2 Studien zur Thrombophilie, die prospektiv Frauen aus der Allgemeinbevölkerung auf das Auftreten von Schwangerschaftskomplikationen hin untersuchten (Lindqvist et al. 1999; Murphy et al. 2000). Wenn man die Ergebnisse dieser beiden Studien zusammenfasst, kann kein erhöhtes Risiko für Aborte im zweiten Trimenon, für intrauterinen Kindstod, Präeklampsie oder intrauterine Wachstumsverzögerung mit Faktor V Leiden gefunden werden.

Es wurde eine randomisierte kontrollierte Studie über eine mögliche Verbesserung des Outcomes mit niedermolekularem Heparin bei Frauen mit Aborten publiziert (Gris et al. 2004). In dieser Studie wurden Frauen, die entweder eine Faktor-V-Leiden-Mutation, eine Prothrombin-20210GA-Variation oder einen Protein-S-Mangel und eine Vorgeschichte eines einmaligen Abortus nach der 9. Schwangerschaftswoche hatten, eingeschlossen. 80 Frauen erhielten 40 mg Enoxaparin, und die gleiche Anzahl von Frauen erhielt 100 mg Aspirin 1-mal täglich Das Ergebnis war sehr eindeutig zugunsten der Verabreichung von niedermolekularem Heparin. Nur 29% der Frauen unter Aspirin hatten eine erfolgreiche Schwangerschaft, während dies bei 86% der Frauen, die Heparin erhalten hatten (OR=16, 95%iges Konfidenzintervall: 7–34), der Fall war.

### Das Antiphospholipidsyndrom

Seit langer Zeit stellt das Vorhandensein von Antiphospholipidantikörpern einen etablierten Risikofaktor für venöse und arterielle Thromboembolien, Abort und intrauterinem Kindstod dar (Galli u. Barbui 2003).

**! Bei 3 und mehr Frühaborten oder einem Spätabort sollte neben einer gynäkologischen, hormonellen und chromosomalen Abklärung auch eine Suche nach Antiphospholipidantikörpern (APLA) durchgeführt werden.**

Spontanaborte in der Frühschwangerschaft sind häufig und kommen bei bis zu 20% der gebärfähigen Frauen vor. Daher stellt ein einzelner Frühabort noch keine Indikation für eine umfassende Abklärung dar. Hingegen wird diskutiert, bei jedem Spätabort mit morphologisch gesundem Fötus eine Suche nach APLA zu veranlassen. Bei etwa 5–15% der Frauen ohne anderweitige Erklärung für habituelle Aborte findet man persistierende APLA (British Society for Haematology 2004). Diese sind nicht nur mit einem erhöhten Abortrisiko, sondern auch mit einem erhöhten Risiko für intrauterine Wachstumsretardierung, Plazentainsuffizienz, Präeklampsie und HELLP-Syndrom assoziiert (Wilson et al. 1999).

Bei einem Teil der Aborte lassen sich Plazentainfarkte als Folge thrombotischer Gefäßverschlüsse nachweisen. Möglicherweise ist hierfür eine Interaktion von APLA mit Annexin V des Trophoblasten verantwortlich (Wilson et al. 1999, Cervera et al. 2004). In Einzelfällen wurde das Auftreten thrombotischer Komplikationen bei Neugeborenen mit APLA in Verbindung gebracht, die bei der Mutter nachweisbar waren. Ein direkter pathogenetischer Einfluss dieser Antikörper ist denkbar, da IgG-Antikörper die Plazenta passieren können. Beschrieben sind Hirninfarkte mit Verschluss der A. cerebri media, Sinusvenenthrombosen, Thrombosen der Aorta sowie der Nierenarterien bzw. -venen (Carbillon et al. 2005).

Bei rezidivierenden Aborten im Rahmen eines APS wird heute im Allgemeinen bei einer erneuten Schwangerschaft eine Behandlung mit niedrig dosierter Acetylsalicylsäure (ASS) und Heparin durchgeführt. In 2 prospektiven Studien konnte belegt werden, dass eine Therapie mit ASS (75 mg/Tag) und unfraktioniertem Heparin (2-mal 5.000 IE/d s.c.) einer alleinigen Behandlung mit ASS überlegen ist, was die Senkung des Abortrisikos betrifft. Die Abortrate konnte von 56–58% unter ASS allein auf 20–29% unter ASS und Heparin gesenkt werden (Kuttheh 1996, Rai et al. 1997). Wegen des Vorteils der täglichen Einmalgabe und des geringeren Osteoporoserisikos bei Langzeitanwendung wird heutzutage bevorzugt niedermolekulares Heparin eingesetzt. Da Frühaborte bei diesen Frauen häufig sind, sollte die Behandlung möglichst unmittelbar nach gesicherter Diagnose einer Schwangerschaft beginnen.

**Cave**

Das Risiko für Schwangerschaftskomplikationen bleibt trotzdem hoch. Häufig kommt es zu fetaler Wachstumsretardierung, schwangerschaftsassoziierter Hypertonie und Frühgeburten.

Regelmäßige gynäkologische Verlaufskontrollen einschließlich fetaler Dopplersonographie in der Schwangerschaft lassen Komplikationen frühzeitig erkennen (British Society for Haematology 2000). Glukokortikoide haben auf das Abortrisiko keinen Einfluss, steigern hingegen die mütterliche und fetale Morbidität. Sie sollten daher ebenso wie andere Immunmodulatoren nicht eingesetzt werden. Für i.v.-Immunglobuline, die bei anderen Autoimmunerkrankungen erfolgreich eingesetzt werden, fehlt ebenfalls der Wirksamkeitsnachweis. Sie sind nicht wirksamer als ASS und Heparin und sollten daher ebenfalls nicht eingesetzt werden (Wisloff u. Crowther 2004).

### Schwangerschaftsassoziierte Hypertonie, Präeklampsie und HELLP

Die Präeklampsie ist eine schwerwiegende Schwangerschaftskomplikation. Sie ist charakterisiert durch das Auftreten von Ödemen, erhöhtem Blutdruck und Proteinurie. Eine schwere Präeklampsie kann zu schweren Organschäden von Niere, Gehirn und v. a. auch der Plazenta führen.

Schwangerschaftsinduzierte Hypertonie und Präeklampsie scheinen einen genetischen Hintergrund zu haben.

Die ersten Berichte über eine höhere Inzidenz von Präeklampsie und/oder HELLP-Syndrom bei Frauen mit einem Thromboserisikofaktor wurde 1996 publiziert, es folgten viele Fallkontrollstudien. Eine große Metaanalyse, publiziert von Kosmas et al. (2003), untersuchte die Assoziation von Präeklampsie mit der Faktor-V-Leiden-Mutation. Errechnet wurde eine OR von 2,3 mit einem 95%igen Konfidenzintervall von 1,5–3,4. In einer weiteren Metaanalyse wurde der Zusammenhang zwischen dem C677T-Polymorphismus im MTHFR-Gen und dem Einfluss auf das Auftreten einer Präeklampsie bzw. schwangerschaftsinduzierten Hypertonie untersucht (Kosmas et al. 2004). Eine signifikante, aber schwache Assoziation mit einer OR von 1,3 (95%iges Konfidenzintervall, 1,0–1,4) wurde für Trägerinnen des T-Allels gefunden. Das heißt, dass Faktor V Leiden, die MTHFR-Mutation oder andere hereditäre Risikofaktoren einen milden Risikofaktor oder einen Kofaktor für das Auftreten einer Präeklampsie während einer Schwangerschaft darstellen könnten, wenngleich die Assoziation wahrscheinlich als eher schwach zu bezeichnen ist. Ein routinemäßiges Screening auf das Vorliegen dieser Polymorphismen und Mutationen bei schwangeren Frauen kann nicht empfohlen werden.

Während große Interventionsstudien den Effekt von ASS auf die Rezidivrate einer Präeklampsie untersuchen, gibt es nur sehr eingeschränkt Daten über die Gabe von niedermolekularem Heparin. In 2 großen prospektiven, randomisierten Studien konnte auch für ASS nicht eindeutig ein positiver Effekt gefunden werden (CLASP 1994; Caritis et al. 1998), während dies in kleineren Studien sehr wohl der Fall war. Derzeit untersucht eine multizentrische prospektive Studie den Einfluss von niedermolekularem Heparin auf das Auftreten einer Präeklampsie in einer Folgeschwangerschaft. Es ist die überwiegende Meinung von Experten, dass zum jetzigen Zeitpunkt keine Indikation für die Gabe von niedermolekularem Heparin zur Prophylaxe eines Rezidivs einer Präeklampsie in einer nachfolgenden Schwangerschaft besteht.



## Literatur


Bates SM, Greer IA, Pabinger I et al.; American College of Chest Physicians (2008) Venous thromboembolism, Thrombophilia, Antithrombotic Treatment and Pregnancy: American College of Chest Physicians Evidence-based Clinical Practice Guidelines (Eighth Edition). Chest 133(Suppl. 6): 844S–886S

Brill-Edwards P, Ginsberg JS, Gent M (2000) Safety of withholding heparin in pregnant women with a history of venous thromboembolism. Recurrence of Clot in This Pregnancy Study Group. N Engl J Med 343: 1439–44

British Society for Haematology (2000): Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. Br J Haematol 109: 704–71

Carbillon L, Letamendia-Richard E, Lachassinne E, Fai O, Aurousseau MH (2005) Neonatal thrombosis associated with maternal antiphospholipid syndrome. J Pediatr Hematol Oncol 27: 56

Caritis S, Sibai B, Hauth J, Lindheimer MD, Klebanoff M, Thom E, VanDosten P, Landon M, Miodovik M, Meis P, Thurnau G (1998) Low dose aspirin to prevent preeclampsia in women at high risk. N Engl J Med 338: 701–5

Cervera R, Asherson RA, Acevedo ML (2004) Antiphospholipid syndrome associated with infections: clinical and microbiological characteristics of 100 patients. Ann Rheum Dis 63: 1312–1317

CLASP (Collaborative Low-dose Aspirin Study in Pregnancy) (1994) a randomized trial of low-dose aspirin for the prevention of preeclampsia among 9364 pregnant women. Lancet 343: 619–29

Galli M, Barbui T (2003) Antiphospholipid antibodies and pregnancy. Best Pract Res Clin Haematol 16: 211–25

Gerhardt A, Scharf RE, Beckmann MW, Struve S, Bender HG, Pillny M, Sandmann W, Zotz RB (2000) Prothrombin and factor V mutations in women with a history of thrombosis during pregnancy and the puerperium. N Engl J Med 342: 374–80

Greer IA, Nelson-Piercy C (2005) Low-molecular-weight heparins for thromboprophylaxis and treatment of venous thromboembolism in pregnancy: a systematic review of safety and efficacy. Blood 106: 401–7

Gris JC, Mercier E, Quere I (2004) Low-molecular-weight heparin versus low-dose aspirin in women with one fetal loss and a constitutional thrombophilic disorder. Blood 103: 3695–9

Kosmas IP, Tatsioni A, Ioannidis JP (2004) Association of C677T polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene with hypertension in pregnancy and pre-eclampsia: a meta-analysis. J Hypertens 22: 1655–62

Kosmas IP, Tatsioni A, Ioannidis JP (2003) Association of Leiden mutation in factor V gene with hypertension in pregnancy and pre-eclampsia: a meta-analysis. J Hypertens 21: 1221–8

Kupferminc MJ, Eldor A, Steinman N, Many A, Bar-Am A, Jaffa A, Fait G, Lessing JB (1999) Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy. N Engl J Med 340: 9–13

Kuttheh WH (1996) Antiphospholipid antibody-associated recurrent pregnancy loss: treatment with heparin and low-dose aspirin is superior to low-dose aspirin alone. Am J Obstet Gynecol 174: 1584–158

Lindhoff-Last E, Kreutzenbeck HJ, Magnani HN (2005) Treatment of 51 pregnancies with danaparoid because of heparin intolerance. Thromb Haemost 93: 63–9

Lindqvist PG, Svensson PJ, Marsaal K, Grennert L, Luterkort M, Dahlback B (1999) Activated protein C resistance (FV:Q506) and pregnancy. Thromb Haemost 81: 532–7

McColl MD, Ramsay JE, Tait RC, Walker ID, McCall F, Conkie JA, Carty MJ, Greer IA (1997) Risk factors for pregnancy associated venous thromboembolism. Thromb Haemost 78: 1183–8

Murphy RP, Donoghue C, Nallen RJ, D'Mello M, Regan C, Whitehead AS, Fitzgerald DJ (2000) Prospective evaluation of the risk conferred by factor V Leiden and thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms in pregnancy. Arterioscler Thromb Vasc Biol 20: 266–70

Pabinger I, Grafenhofer H, Kaider A, Kyrle PA, Quehenberger P, Mannhalter C, Lechner K (2005) Risk of pregnancy-associated recurrent venous thromboembolism in women with a history of venous thrombosis. Thromb Haemost 3: 949–54

Pabinger I, Grafenhofer H, Kyrle PA, Quehenberger P, Mannhalter C, Lechner K, Kaider A (2002) Temporary increase in the risk for recurrence during pregnancy in women with a history of venous thromboembolism. Blood 100: 1060–2

Pabinger I, Nemes L, Rintelen C (2000) Pregnancy-associated risk for venous thromboembolism and pregnancy outcome in women homozygous for factor V Leiden. Hematol J 1: 37–41

Pabinger I, Schneider B (1996) Thrombotic risk in hereditary antithrombin III, protein C, or protein S deficiency. A cooperative, retrospective study. Gesellschaft fur Thrombose- und Hamostaseforschung (GTH) Study Group on Natural Inhibitors. Arterioscler Thromb Vasc Biol 16: 742–8

Rai R, Shlebak A, Cohen H, Backos M, Holmes Z, Marriott K, Regan L (2001) Factor V Leiden and acquired activated protein C resistance among 1000 women with recurrent miscarriage. Hum Reprod 16: 961–5

Rai R, Cohen H, Dave M, Regan L (1997) Randomized controlled trial of aspirin and aspirin plus heparin in pregnant women with recurrent miscarriage associated with phospholipids antibodies (or antiphospholipid antibodies). Br Med J 314: 253–257

Rey E, Kahn SR, David M, Shrier I (2003) Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis. Lancet 361: 901–8

Salomon O, Steinberg DM, Tamarin I, Zivelin A, Seligsohn U (2005) Plasma replacement therapy during labor is not mandatory for women with severe factor XI deficiency. Blood Coagul Fibrinolysis 16: 37–41

Toglia MR, Weg JG (1996) Venous thromboembolism during pregnancy. N Engl J Med 335: 108–14

Wilson QA et al. (1999) International Consensus Statement on Preliminary Classification Criteria for Definite Antiphospholipid Syndrome. Arthritis & Rheumatism 42: 1309–1311

Wisloff F, Crowther M (2004) Evidence-based treatment of the antiphospholipid syndrome. I. Pregnancy failure. Thromb Res 114: 75–81

Younis JS, Brenner B, Ohel G, Tal J, Lanir N, Ben-Ami M (2000) Activated protein C resistance and factor V Leiden mutation can be associated with first-as well as second-trimester recurrent pregnancy loss. Am J Reprod Immunol 43: 31–5

## 31.1.5 Thrombophilie und Hormone

*B. Pötzsch, K. Madlener*



### Einleitung

Östrogene und Gestagene, die zur Kontrazeption und zur Hormonersatztherapie eingesetzt werden, erhöhen das venöse Thromboserisiko. Die relative Risikoerhöhung ist abhängig von der Art und der Dosierung der Hormone, der Behandlungsdauer und individuellen Risikofaktoren. Hormonelle Antikonzeptiva der ersten Generation mit einem hohen Östrogenanteil haben ein höheres Thromboserisiko als die Pillen der zweiten und dritten Generation mit einem niedrigen Östrogenanteil. Das Thromboserisiko von reinen Gestagenpräparaten, die zur Antikonzeption eingesetzt werden, ist wahrscheinlich minimal. Die vorliegenden Studien erreichen allerdings kein Signifikanzniveau.

Vergleichbar mit der hormonellen Antikonzeption steigt das Thromboserisiko während einer Hormonersatztherapie. Das absolute Thromboserisiko dieser Patientinnen ist aber durch das fortgeschrittene Lebensalter höher.

Ein laboranalytisches Thrombophiliescreening vor Pilleneinnahme wird nicht empfohlen. Das Vorliegen einer asymptomatischen heterozygoten FV-Leiden- oder Prothrombinmutation ist keine generelle Kontraindikation für die Verordnung einer Pille. Im Fall einer positiven Eigen- oder Familienanamnese sollte die Indikation zur Verordnung kritisch gestellt werden.

#### Hormonelle Antikonzeption und venöse Thrombose

Kurz nach Einführung der Antibabypille vor etwa 50 Jahren ergaben Kasuistiken einen ersten Hinweis auf ein erhöhtes Thromboserisiko (Jordan 1961). Inzwischen sind eine Vielzahl von Fallkontroll- und Kohortenstudien durchgeführt worden, die den Zusammenhang zwischen einem erhöhten venösen Thromboserisiko und einer hormonellen Antikonzeption untersuchten. Die Ergebnisse zeigen, dass das Thromboserisiko durch eine hormonelle Antikonzeption erhöht wird. Die Risikoerhöhung ist abhängig von der Dosierung und der Hormonzusammensetzung der Pille, von der Dauer der Pilleneinnahme und dem Lebensalter der Frau sowie von individuellen Risikofaktoren.

Ein Vergleich zwischen Pillen der ersten Generation, die Östrogene in hoher Dosierung zwischen 50 und 150 µg enthalten, und den Pillen der zweiten Generation, deren Östrogenanteil unter 50 µg liegt, zeigt ein 10-fach erhöhtes Thromboserisiko für Pillen der ersten Generation und ein 4-fach erhöhtes Thromboserisiko für Pillen der zweiten Generation (Vessey et al. 1986; Gerstman et al. 1991).

Neben der Reduktion des Östrogenanteils wurden in verschiedenen hormonellen Antikonzeptiva der Anteil und die Art des eingesetzten Progesterons variiert. Hormonelle

**Tab. 31.7.** Venöses Thromboserisiko und orale Kontrazeption

| Studie | Odd-Ratio (95% Konfidenzintervall) | | |
|---|---|---|---|
| | Alle Kontrazeptiva | Präparate der 2. Generation | Präparate der 3. Generation |
| Bloemenkamp et al. 1995 | – | 3,8 (1,7–8,4) | 8,7 (3,9–19,3) |
| Bloemenkamp et al. 1999 | 3,2 (2,3–4,5) | – | – |
| Grodstein et al. 1996 | 2,2 (0,8–5,9) | – | – |
| WHO 1995 | – | 3,6 (1,78,4) | 8,7 (3,9–19,3) |
| Jick et al. 1995 | 5,9 (3,7–9,8) | – | – |
| Lidegaard et al. 2002 | – | 2,9 (2,2–3,8) | 4,0 (3,2–4,9) |
| Lidegaard et al. 1998 | – | 1,8 (1,1–2,9) | 3,2 (2,3–4,4) |
| Lewis et al. 1996 | 4,4 (3,4–5,8) | – | – |
| Spitzer et al. 1996 | 4,0 (3,1–5,3) | 3,2 (2,3–4,3) | 4,8 (3,4–6,7) |



Antikonzeptiva der zweiten Generation kombinieren niedrig dosiertes Östrogen mit Norgestrel, Levonorgestrel oder Norgestrion als Progesteronkomponente, während in Präparaten der dritten Generation die Progesterone Desogestrel und Gestoden eingesetzt werden. Die in Tab. 31.7 zusammengefassten Studienergebnisse zeigen das geringste Thromboserisiko für Präparate der zweiten Generation. Diese Unterschiede sind wahrscheinlich auf die Progesteronkomponente zurückzuführen, auch wenn eindeutige pathophysiologische Erklärungen bisher nicht verfügbar sind.

In der Bewertung des Thromboserisikos für Pillen der dritten Generation muss berücksichtigt werden, dass die Studienergebnisse recht heterogen sind. Dies ist möglicherweise auf unberücksichtigte Biaseffekte und Unterschiede im Studiendesign zurückzuführen. Beispielsweise ist es möglich, dass die Dauer der Pilleneinnahme nicht abgeglichen wurde oder ein Verschreibungsbias durch eine nicht randomisierte Zuteilung erfolgte. In einer Metaanalyse, die 9 Fallkontrollstudien und 3 Kohortenstudien in die Auswertung einbezog, errechnete sich eine Erhöhung des Thromboserisikos von Pillen der zweiten Generation zu Pillen der dritten Generation von 1,7 (95% Konfidenzintervall: 1,4–2; Kemmeren et al. 2001).

Welchen Einfluss eine hormonelle Antikonzeption auf das Risiko zur Entwicklung von Thrombosen an untypischer Lokalisation hat, wurde in 8 Fallkontrollstudien untersucht. Das Risiko einer Zerebral- oder Sinusvenenthrombose erhöht sich unter einer hormonellen Antikonzeption um das 6-fache (Dentali et al. 2006), wohingegen das Risiko für Pfortaderthrombosen und Mesenterialvenenthrombosen nicht ansteigt (Primignani et al. 2005).

Wesentlichen Einfluss auf das Thromboserisiko haben die Dauer der Pilleneinnahme und das Lebensalter der Frau.

**! Nach Beginn der Pilleneinnahme beginnt das Thromboserisiko in den ersten 4 Monaten anzusteigen, in den ersten 6–12 Monaten ist es am höchsten (Spitzer et al. 1996, Gomes et al. 2004). Danach hat die Dauer der Einnahme keinen Einfluss auf das Thromboserisiko.**

Nach Absetzen der Pille erreicht das Thromboserisiko nach etwa 3 Monaten den basalen Level (Poulter et al. 1995). Bei einer Wiederaufnahme der hormonellen Antikonzeption ist das relative Risiko vergleichbar mit der Ersteinnahme, das absolute Risiko ist, bedingt durch das gestiegene Lebensalter, leicht erhöht. Durch den Einfluss des Lebensalters auf das basale Thromboserisiko ist das pillenassozierte Thromboserisiko bei Frauen zwischen 40 und 49 Jahren höher als bei jüngeren Frauen (Farmer et al. 1997).

Welchen Einfluss die Applikationsform auf das Thromboserisiko hat, ist unklar. In 2 Studien wurde eine transdermale Pflasterapplikation mit der oralen Einnahme von norgestimathaltigen Kontrazeptiva untersucht. In einer Studie zeigte sich kein Einfluss (Jick et al. 2006), während in einer zweiten Studie das Thromboserisiko bei transdermaler Applikation 2-fach höher war (Cole et al. 2007).

Welchen Einfluss hormonelle Kontrazeptiva auf das Thromboserisiko haben, die ausschließlich Gestagene enthalten, ist nicht geklärt. Während die Gabe von höherdosiertem Progesteron in der Behandlung von Zyklusstörungen das Thromboserisiko erhöht (Vasilakis et al. 1999; Poulter et al. 1999), zeigen die wenigen verfügbaren Studien über den Einsatz von reinen Gestagenpräparaten zur Antikonzeption keine eindeutigen Befunde. Keine der durchgeführten Studien erreichte eine statistische Signifikanz (Heinemann et al. 1999). Die in Tab. 31.8 zusammengefassten

**Tab. 31.8.** Thromboserisiko reiner Gestagenpräparate

| Studie | Design | Odd-Ratio (95% Konfidenzintervall) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Antikonzeptiva | Therapie von Zyklusstörungen | Progesterondepotgabe |
| Farmer et al. 1997 | Kohortenstudie | 0,84/10.000 | – | – |
| Heinemann et al. 1999 | Fallkontrollstudie | 0,68 (0,3–2,6) | – | – |
| Lewis et al. 1996 | Fallkontrollstudie | 1,28 (0,66–2,5) | – | – |
| Lidegaard et al. 2002 | Fallkontrollstudie | 2,0 (0,8–5,1 ) | – | – |
| Lidegaard et al. 1998 | Fallkontrollstudie | 2,61 (0,69–9,8) | – | – |
| Poulter et al. 1999 | Fallkontrollstudie | – | 5,9 (1,2–30,1) | – |
| Vasilakis et al. 1999 | Fallkontrollstudie | 1,3 (0,3–6,8) | 5,3 (1,5–8,7) | – |
| WHO 1998 | Fallkontrollstudie | 1,74 (0,8–3,99) | – | 2,19 (0,66–7,3) |

Befunde deuten jedoch darauf hin, dass, wenn überhaupt, das Thromboserisiko eher nur marginal erhöht ist. Es liegen ebenfalls keine Daten über das Thromboserisiko von Gestagen freisetzenden Spiralen, intravaginalen Progesteronringen und implantierbaren Progesterondepots vor.

### Hormonelle Antikonzeption und Thrombophilie

Patientinnen mit einem angeborenen oder erworbenen thrombophilen Risikofaktor haben ein erhöhtes Thromboserisiko. Es ist deswegen zu vermuten, dass die Pilleneinnahme als ein zusätzlicher Risikofaktor das Thromboserisiko bei diesen Frauen weiter potenziert. Gut untersucht ist dies für Frauen mit einer FV-Leiden- und einer Prothrombinmutation.

Durch die Pilleneinnahme erhöht sich das Thromboserisiko für heterozygote FV-Leiden-Mutationsträgerinnen um das 20- bis 30-fache im Vergleich zu Mutationsträgerinnen ohne Pilleneinnahme, bei homozygot betroffenen Frauen erhöht es sich um das 100-fache (Martinelli et al. 2001). Für heterozygote Prothrombin-G20210A-Mutationsträgerinnen erhöht sich das Thromboserisiko um das 16-fache (Martinelli et al. 1999). Auch andere thrombophile Risikofaktoren wie ein Protein-C- oder Protein-S-Mangel und eine Erhöhung einzelner Gerinnungsfaktoraktivitäten erhöhen das mit der Pilleneinnahme verbundene Thromboserisiko.

Die Erhöhung des Thromboserisikos durch thrombophile Risikofaktoren und deren relativ hohe Häufigkeit hat zur der Überlegung geführt, dass durch eine Screeninguntersuchung vor Verordnung der Pille besonders gefährdete Frauen erkannt werden können. Tatsächlich kann durch Ausschluss von Frauen mit thrombophilen Risikofaktoren von der Pillenverordnung die Häufigkeit von Thrombosen und Lungenembolien gesenkt werden. Untersuchungen haben jedoch gezeigt, dass ein solches Vorgehen nicht kosteneffektiv umsetzbar ist (Wu et al. 2005). Wesentlich effektiver ist ein anamneseorientiertes Vorgehen.

**! Frauen mit einer familiären Thromboseanamnese sollten auf ein erhöhtes Thromboserisiko hingewiesen werden, ein Thrombophiliescreening sollte empfohlen werden. In diesen Fällen sollte die Pillenverordnung restriktiv erfolgen.**

Allerdings muss in die Entscheidungsfindung zur Pillenverordnung einbezogen werden, dass auch eine unerwünschte Schwangerschaft mit einer Steigerung des Thromboserisikos einhergeht. Außerdem ist das absolute Thromboserisiko aufgrund des Lebensalters eher gering.

Inwieweit das Rezidivrisiko für eine venöse Thrombose durch die Wiederaufnahme einer oralen Kontrazeption erhöht wird, ist nicht untersucht. Es ist jedoch zu vermuten, dass das Rezidivrisiko vergleichbar dem Thromboserisiko erhöht ist. Aus diesem Grund wird empfohlen, nach Beendigung der Sekundärprophylaxe einer venösen Thrombose die hormonelle Antikonzeption nicht wieder aufzunehmen. Während der Sekundärprophylaxe, die meist mit Vitamin-K-Antagonisten durchgeführt wird, bestehen keine Bedenken gegen eine hormonelle Antikonzeption.

### Hormonersatztherapie

Durch eine Hormonersatztherapie wird das Risiko einer venösen Thrombose erhöht (Tab. 31.9).

Vergleichbar mit den hormonellen Kontrazeptiva ist das Thromboserisiko im ersten Jahr am höchsten. Auch wird durch einen vorliegenden thrombophilen Risikofaktor das Risiko weiter erhöht. Weitere Faktoren, die das Thromboserisiko beeinflussen, sind die Applikationsart, die Hormonkonzentration und die Hormonzusammensetzung. Durch die transdermale Applikation wird der »first pass«-Effekt in der Leber verhindert und die Auswirkungen auf

**Tab. 31.9.** Thromboserisiko unter Hormonersatztherapie

| Studie | Design | Gesamtrisiko (95%Konfidenzintervall) |
|---|---|---|
| Grady et al. 2000 | Randomisierte klinische Studie | 2,7 (1,4–5) |
| Hulley et al. 2002 | Randomisierte klinische Studie | 2,1 (1,3–3,4) |
| Lowe et al. 2000 | Fallkontrollstudie | 4,09 (1,3–13,3) |
| Rosendaal et al. 2002 | Fallkontrollstudie | 3,2 (1,7–6,0) |
| Varas-Lorenzo et al. 1998 | Fallkontrollstudie | 2,3 (1,0–5,3) |
| WHI 2002 | Randomisierte klinische Studie | 2,11 (1,58–2,82) |

das Hämostasesystem sind geringer (Scarabin et al. 2003; Canonico et al. 2007).



Die bisher verfügbaren Daten zeigen, dass die Erhöhung des relativen Thromboserisikos in etwa vergleichbar ist mit dem der hormonellen Antikonzeptiva. Durch das gesteigerte basale Thromboserisiko aufgrund des höheren Lebensalters ist das absolute Thromboserisiko aber höher. Frauen, die jünger als 40 Jahre sind, haben durch die Antibabypille ein zusätzliches Thromboserisiko von 1 auf 1.000 Anwenderinnen. Das Thromboserisiko einer Hormonersatztherapie liegt bei Frauen zwischen 50 und 59 Jahren bei 4 auf 1.000 Anwenderinnen und steigt für das 60. bis 69. Lebensjahr auf 9 pro 1.000 Anwenderinnen (UK Committee on Safety of Medicines and Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency 2003). Dieses Risiko wird durch das Vorliegen von thrombophilen Risikofaktoren weiter erhöht. Durch das insgesamt stärker erhöhte Risiko gehen einige Modelle auch von einer Kosteneffektivität eines Thrombophiliescreenings vor Verordnung einer Hormonersatztherapie aus.

## Literatur


Bloemenkamp K, Rosendaal F, Büller H et al. (1999) Risk of venous thrombosis with use of current low-dose oral contraception is not explained by diagnostic suspicion and referral bias. Arch Intern Med 159: 65–70

Bloemenkamp K, Rosendaal F, Helmerhorst F et al. (1995) Enhancement by FV-leiden mutation of risk of deep vein thrombosis associated with oral contraceptives containing a third generation progestagen. Lancet 346: 1593–1596

Canonico M, Oger E, Plu-Bureau G et al. (2007) Hormone therapy and venous thromboembolism among postmenopausal woman: impact of the route of estrogen administration and progestogens: the ESTHER study. Circulation 115: 840–845

Cole J, Norman H, Doherty M et al. (2007) Venous thromboembolism, myocardial infarction, and stroke among transdermal contraceptive system users. Obstet Gynecol 109: 339–346

Dentali F, Crowther M, Ageno W (2006) Thrombophilic abnormalities, oral contraceptives, and risk of cerebral vein thrombosis: a meta-analysis. Blood 107: 2766–2773

Farmer RDT, Lawrenson RA, Thompson CR et al. (1997) Population-based study of risk of venous thromboembolism associated with various oral contraceptives. Lancet 349: 83–88

Gerstman B, Piper T, Tomita D et al. (1991) Oral contraceptive estrogen dose and the risk of venous thromboembolic disease. Am J Epidemiol 133: 32–37

Gomes MPV, Deitcher SR (2004) Risk of venous thromboembolic disease associated with hormonal contraceptives and hormone replacement therapy. Arch Intern Med 164: 1965–1976

Grady O, Wenger N, Herrington D et al. (2000) Postmenopausal hormone therapy increases risk for venous thromboembolic disease the heart and estrogen/progestin replacement study. Arch Intern Med, 132: 689–696

Grodstein F, Stampler M, Goldhaber S et al. (1996) Prosepctive study of exogenous hormones and risk of pulmonary embolism in women. Lancet 348: 983–987

Heinemann LA, Assmann A, DoMinh T et al. (1999) Oral progestogen-only contraceptives and cardiovascular risk: results from the translational study on oral contraceptives and the health of young woman. Eur J Contracept Reprod Health Care 4: 67–73

Hulley S, Furberg C, Barrett-Connor E et al. (2002) Non-cardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy: Heart and estrogen/progestin replacement study follow-up (HERS II). JAMA 288: 58–66

Jick H, Jick S, Gurewich V et al. (1995) Risk of idiopathic cardiovascular death and nonfatal venous thromboembolism in woman using oral contraceptives with differing progestagens components. Lancet 346: 1589–1593

Jick S, Kaye J, Russmann S et al. (2006) Risk of nonfatal venous thromboembolism in woman using a contraceptive transdermal patch and oral contraceptives containing norgestimate and 35 microg of ethinyl estradiol. Contraception 73: 223–228

Jordan W (1961) Pulmonary embolism. Lancet 1: 1146–1147

Kemmeren J, Algra A, Grobbee D (2001) Third generation oral contraceptives and risk of venous thrombosis: meta-analysis. Br Med J 323: 131–134

Lewis M, Heineman L, MacRae K et al. (1996) The increased risk of venous thromboembolism and the use of third-generation progestagens: role of bias in observational research. Contraception 54: 5–13

Lidegard O, Edström B, Kreiner S (2002) Oral contraceptives and venous thromboembolism: a five-year national case-control study. Contraception 65: 187–196

Lidegard O, Edström B, Kreiner S (1998) Oral contraceptives and venous thromboembolism: a case-control study. Contraception 57: 291–301

Lowe G, Woodward M, Vessey M et al. (2000) Thrombotic variables and risk of idiopathic venous thromboembolism in woman aged 45–65 years: relationships to hormone replacement therapy. Thromb Haemost 83: 530–535

Martinelli I (2001) Risk factors in venous thromboembolism. Thromb Haemost 86: 395–403

Martinelli I, Taioli E, Bucciarelli P et al. (1999) Interaction between the G20210A mutation of prothrombin gene and oral contraceptive use in deep vein thrombosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol 19: 700–770

Poulter NR, Chang CL, Farley TMM et al. (1999) Risk of cardiovascular diseases associated with oral progestagen preparations with therapeutic indications [letter]. Lancet 354: 1610

Poulter NR, Chang CL, Farley TMM et al. (1995) Venous thromboembolic disease and combined oral contraceptives: results of an international multicentre case-control study. Lancet 346: 1575–1582

Primignani M, Martinelli I, Bucciarelli P et al. (2005) Risk factors for thrombophilia in extrahepatic portal vein obstruction. Hepatology 41: 603–608
Rosendaal FR, Vessey M, Rumley A et al. (2002) Hormonal replacement therapy, prothrombotic mutations and the risk of venous thrombosis. Br J Haematol 116: 851–854
Scarabin P, Oger E, Plu-Bureau G, on behalf of the EStrogen and THromboEmbolism risk (ESTHER) study group (2003) Differential association of oral and transdermal oestrogen-replacement therapy with venous thromboembolism risk. Lancet 362: 428–432
Spitzer WO, Lewis MA, Heinemann LAJ et al. (1996) Third generation oral contraceptives and risk of venous thromboembolic disorders: an international case-control study. BMJ 312: 83–88
UK Committee on Safety of Medicines and Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency (2003) HRT: update on the risk of breast cancer and long-term safety. Curr Probl Pharmacovigilance 29: 1–3
Varas-Lrenzo C, Garcia-Rodriguez LA, Cattaruzzi C et al. (1998) Hormone replacement therapy and the risk of hospitalization for venous thromboembolism: a population-based study in southern france. Am J Epidemiol 147: 387–390
Vasilakis C, Jick H, Melero-Montes mm (1999) Risk of idiopathic venous thromboembolism in users of progestagens alone. Lancet 354: 1610–1611
Vessey M, Mant D, Smith A et al. (1986) Oral contraceptives and venous thromboembolism: findings in a large prospective study. Br Med J 292: 526
WHO (1995) Effect of different progestagens in low oestrogen oral contraceptives on venous thromboembolic disease. World health organization collaborative study of cardiovascular disease and steroid hormone contraception. Lancet 346: 1582–1588
World Health Organization collaborative study of cardiovascular disease and steroid hormone contraception (1998) Cardiovascular disease and use of oral and injectable progesteron-only contraceptives and combined injectable contraceptives: results of an international, multicenter, case-control study. Contraception 57: 315–324
Writing group for the women´s health initiative investigators (WHI) (2002) Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the women's health initiative randomized controlled tiral. JAMA 288: 321–333
Wu O, Robertson L, Twaddle S et al. (2005) Screening for thrombophilia in high-risk situations: a meta-analysis and cost-effectiveness analysis. Br J Haematol 131: 80–90

## 31.1.6 Exogene thrombophile Risikofaktoren

*S. Haas*



Exogene thrombophile Risikofaktoren erhöhen das Thromboserisiko unabhängig von möglicherweise bestehenden Gerinnungsstörungen. Operative Eingriffe und Tumorerkrankungen stellen die mit Abstand relevantesten exogenen Risikofaktoren dar, deren Vorliegen eine medikamentöse Thromboseprophylaxe bedingen kann. Immobilisationen und Langstreckenreisen sind weitere mit einer geringen Thromboseinzidenz verbundene Risikofaktoren.

### Immobilisation

Störungen des Blutflusses wurden bereits von Virchow in ursächlichem Zusammenhang mit der Entstehung venöser Thromboembolien gebracht. Dies hat sich durch unzählige präklinische und klinische Studien bestätigt, wobei jedoch anzumerken ist, dass Verlangsamungen des venösen Blutflusses bzw. Stase nur im Zusammenspiel mit einer weiteren Komponente der Virchow'schen Trias eine Rolle spielen, wie Hyperkoagulabilität oder Veränderungen der Gefäßwand.

In der tierexperimentellen Thromboseforschung hat sich immer wieder bestätigt, dass durch komplette Stase ohne Aktivierung der Blutgerinnung kein Thrombus ausgelöst wird; nur in Kombination mit iatrogen erzeugter Hyperkoagulabilität entsteht eine Thrombose. Dieses Grundprinzip wurde 1959 von Wessler et al. beschrieben und seitdem erfolgreich in der Thromboseforschung angewandt (Wessler et al. 1959).

In der klinischen Forschung konnten verschiedene Krankheitsbilder identifiziert werden, bei denen Immobilisation das Risiko venöser Thromboembolien erhöht, wie z. B.

- gelenkübergreifende Ruhigstellung der unteren Extremität im Gipsverband nach Frakturen oder Ruptur der Achillessehne (Lassen et al. 2002),
- verschiedene neurologische Erkrankungen, insbesondere Schlaganfall mit Parese (Laporte et al. 2008),
- verschiedene akute internistische Erkrankungen, insbesondere schwere Formen der Herzinsuffizienz und chronisch obstruktive Lungenerkrankung mit Beatmung (Samama et al. 1999; Fraisse et al. 2000).

Auch in populationsbasierten Fallkontrollstudien wurde die Immobilisation als Risikofaktor für venöse Thromboembolien identifiziert (Heit et al. 2000; Anderson et al.

1991). Wegen fehlender objektiver Kriterien zur Charakterisierung der Immobilisation erweist sich jedoch die genaue Definition dieses Begriffes als schwierig. In manchen Studien werden Bettlägerigkeit und Immobilisation synonym verwendet, wogegen andere Autoren Art und Umfang der Immobilisation näher beschreiben. Trotzdem verbleibt zu viel Subjektivität, um aus den in der Literatur gemachten Angaben zur Immobilisation verlässliche Rückschlüsse hinsichtlich Indikation und Dauer prophylaktischer Maßnahmen ziehen zu können.

In Analogie zum bereits erwähnten Thrombosemodell von Wessler et al. (1959), demnach Stase ohne Hyperkoagulabilität keine Thrombose auslöst, und basierend auf der klinischen Erfahrung, dass bei langfristiger Immobilisation ohne akute Erkrankung keine vermehrten Thromboembolien gesehen werden, kann als Schlussfolgerung vorsichtig empfohlen werden, bei der Indikationsstellung medikamentöser Prophylaxemaßnahmen den krankheits- bzw. operationsbedingten Risikofaktoren mehr Aufmerksamkeit zu schenken als der Immobilisation.



**Tab. 31.10.** Risikogruppen und Häufigkeit venöser Thromboembolien (VTE). (Nicolaides et al. 1992)

| VTE-Risiko | Distale Beinvenenthrombose [%] | Proximale Beinvenenthrombose [%] | Tödliche Lungenembolie [%] |
|---|---|---|---|
| Niedrig | <10 | <1 | <0,1 |
| Mittel | 10–40 | 1–10 | 0,1–1 |
| Hoch | 40–80 | 10–30 | >1 |

**Tab. 31.11.** Beispiele für Operationen und Traumata und ihre Risikokategorien

| Art des Eingriffs | Risiko |
|---|---|
| Totalendoprothese von Hüfte oder Knie | Hoch |
| Polytrauma | |
| Tumorchirurgie | |
| Ober- und Unterschenkelfrakturen | Mittel |
| Liegegips, Gehgips | |
| Arthroskopie, Laparoskopie | |
| Venenchirurgie | Niedrig |
| Metallentfernung | |
| Eingriffe an den oberen Extremitäten | |

## Operation

Zahlreiche Operationen und Verletzungen gehen mit einem erhöhten Thromboserisiko einher. Dieses Risiko kann in Abhängigkeit von Art und Umfang des operativen Eingriffs in die Kategorien niedrig, mittel und hoch eingeteilt werden. Prinzipiell stammt diese Einteilung aus älteren, placebokontrollierten Studien, wo Thromboseinzidenzen mit objektiven Nachweis- bzw. Ausschlussverfahren ermittelt worden sind. Die Häufigkeiten venöser Thromboembolien für verschiedene Risikogruppen und klinische Beispiele sind in den Tab. 31.10 und 31.11 aufgelistet.

Prinzipiell ist das Risiko venöser Thromboembolien nach operativen Eingriffen durch Art und Umfang des Eingriffs bzw. der Verletzung bedingt, wobei pathophysiologisch die Aktivierung der Blutgerinnung durch den Eingriff eine wichtige Rolle spielt. So kann man das operationsbedingte Thromboserisiko auch als expositionelles Risiko bezeichnen, welches im Zusammenspiel mit einer patientenbezogenen Prädisposition (z. B. Thrombophilie, höheres Lebensalter, anamnestisch bekannte Thromboembolie, Tumorleiden, Östrogentherapie, schwere Adipositas u. a.) das individuelle Risiko charakterisiert (Haas 2004). Die Indikationsstellung und Wahl der prophylaktischen Maßnahmen sollte auf der Grundlage der klinischen Abschätzung des individuellen Thromboserisikos erfolgen.

## Katheter

Patienten mit intensivmedizinischer Behandlung oder malignen Erkrankungen benötigen zur Verabreichung von Transfusionen, Chemotherapie, parenteraler Ernährung oder Antibiotika oftmals einen zentralvenösen Zugang. Neben der Gefahr von Infektionen können auch thrombotische Komplikationen die Therapie dieser Patienten erschweren. Dies führt in vielen Fällen zur Notwendigkeit der Katheterentfernung und geht mit einem erhöhten Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko einher (Monreal et al. 1994). In mehreren prospektiven Studien wurden Wirksamkeit und Verträglichkeit verschiedener Antikoagulanzien zur Prävention thromboembolischer Komplikationen untersucht, jedoch ist die Datenlage nicht eindeutig, um aus diesen Ergebnissen eine verbindliche Empfehlung zur routinemäßigen Prophylaxe ableiten zu können (Tab. 31.13; Monreal et al. 1994; Bern et al. 1990; Karthaus et al. 2006; Couban et al. 2005; Verso et al. 2005).

In einer Cochrane-Analyse zum Stellenwert der Thromboseprophylaxe bei onkologischen Patienten mit Versorgung durch zentralvenöse Katheter wird neben der heterogenen Datenlage auf eine generelle Abnahme des Risikos für symptomatische Thrombosen im Laufe der Jahre hingewiesen, was möglicherweise durch Verwendung verbesserter Kathetermaterialien und Verbesserungen der Technik bei Implantation und Pflege der Katheter begründet ist (Akl et al. 2007). Somit muss die Indikation zur medikamentösen Thromboseprophylaxe im Einzelfall unter individueller Nutzen-Risiko-Abwägung gestellt werden.

**Tab. 31.12.** Zentralvenöse Katheter und Thromboseprophylaxe

| Prophylaxeregime | Endpunktbestimmung | TVT [%] | p | Autoren |
|---|---|---|---|---|
| Warfarin 1 mg vs. keine Therapie | Phlebographie | 9,5 | <0,001 | Bern et al. (1990) |
| | | 37,5 | | |
| Dalteparin 2.500 U vs. keine Therapie | Phlebographie | 6 | 0,002 | Monreal et al. (1994) |
| | | 62 | | |
| Dalteparin 5.000 U vs. keine Therapie | Symptomatische Ereignisse | 3,7 | 0,90 | Karthaus et al. (2006) |
| | | 3,4 | | |
| Warfarin 1 mg vs. Placebo | Symptomatische Ereignisse | 4,6 | 0,81 | Couban et al. (2005) |
| | | 4,0 | | |
| Enoxaparin 40 mg vs. Placebo | Phlebographie | 14,1 | 0,35 | Verso et al. (2005) |
| | | 18,0 | | |

*TVT* tiefe Venenthrombose

### Tumor

Eine häufige Assoziation von malignen Tumoren und venösen Thromboembolien ist seit langer Zeit bekannt, jedoch sind noch viele Fragen hinsichtlich der Ursache thromboembolischer Komplikationen bei verschiedenen Tumorarten und der Indikation zu prophylaktischen Maßnahmen offen.

**! Die höchsten Thromboseinzidenzen werden bei Patienten mit Adenokarzinomen des Pankreas, der Lunge, des Ovars und der Niere beobachtet, während Leukämie oder Lymphome seltener mit Thromboembolien einhergehen.**

Neben der Tumorart spielen auch das Tumorstadium und die Art der Behandlung, wie z. B. Chemotherapie, eine wichtige Rolle (Khorana 2007). Auch neueste Registerdaten bestätigen nicht nur die hohe Inzidenz venöser Thromboembolien bei bösartigen Tumoren, sondern belegen auch das erhöhte Blutungsrisiko dieser Patienten. Ein Fünftel aller Patienten, die wegen einer venösen Thromboembolie in das multizentrische MASTER-Register eingeschlossen wurden, hatten eine maligne Erkrankung, und insgesamt war die Häufigkeit schwerer Blutungen bei diesen Patienten 3-mal so hoch wie bei Patienten ohne Malignom. Darüber hinaus war auch die Thromboselast bei den Tumorpatienten wesentlich höher (Imberti et al. 2008).

Die hämostaseologischen Veränderungen beim Tumorpatienten wurden in einem Buchbeitrag von Kemkes-Matthes und Mitarbeitern klar und deutlich beschrieben (Kemkes-Matthes et al. 2005). Bei nahezu allen Tumorpatienten kommt es zur Aktivierung des Gerinnungssystems mit konsekutiver Generierung von Thrombin. Thrombin fungiert nicht nur als Schlüsselenzym der plasmatischen Gerinnungskaskade, sondern es gilt darüber hinaus als potentester Thrombozytenaktivator und hat wesentlichen Einfluss auf die Expression von Adhäsionsmolekülen: Thrombozyten translozieren unter Stimulation durch Thrombin insbesondere Selektin auf die Thrombozytenoberfläche. Bei Endothelzellen – und in ähnlicher Form auch bei Tumorzellen – kommt es auf der Zelloberfläche zur Expression der Adhäsionsmoleküle P- und E-Selektin, ICAM-1 und VCAM-1. Die Expression dieser Adhäsionsmoleküle wiederum bewirkt, dass »Rolling« und »Adhäsion« von Tumorzellen an der Endothelzelloberfläche ermöglicht wird und es schließlich zur Migration durch die Endothelzellbarriere kommen kann.

Basierend auf diesen pathophysiologischen Grundlagen und den klinischen Beobachtungen der erhöhten Thromboembolieinzidenzen bei Tumorpatienten ergibt sich eindeutig eine Rationale für eine Thromboseprophylaxe mit Antikoagulanzien. Das erhöhte Blutungsrisiko verschiedener maligner Erkrankungen erfordert jedoch eine sorgsame Nutzen-Risiko-Abwägung bei Indikationsstellung und Wahl des Medikaments bzw. der Dosis. Nach bisher verfügbaren Daten ist der alleinige Nachweis einer malignen Erkrankung noch keine ausreichende Begründung für eine routinemäßige und insbesondere zeitlich unbegrenzte Verabreichung von Antikoagulanzien. Wenn jedoch zusätzliche Risikofaktoren, wie z. B. chirurgische Eingriffe, oder eine Chemotherapie mit Hospitalisierung bei Patienten mit hoher Tumorlast hinzukommen, ist eine medikamentöse Prophylaxe mit niedermolekularen Heparinen unbedingt empfehlenswert (Khorana 2007).

### Langstreckenreisen

Über die möglichen Ursachen von thromboembolischen Erkrankungen, die während oder kurzfristig nach Langstreckenreisen auftreten, ist auch heute trotz zahlreicher Fallberichte und Studien nur wenig bekannt. Während man anfangs nach der Feststellung von Thrombosen oder Lungenembolien nach längeren Flugreisen annahm, dass dafür die gedrängte Sitzposition v. a. in der Touristenklasse der Flugzeuge verantwortlich sei (deshalb auch die frühere Bezeichung »economy class syndrome«), fand man später, dass die sogenannte Reisethrombose auch bei der Verwendung anderer Transportmittel (Bus, Bahn, Auto) auftreten kann. In Studien wurde daher versucht, Genaueres über die Ursachen, die für die Entstehung einer Reisethrombose verantwortlich sein könnten, herauszufinden (siehe Übersicht).



**Mögliche Faktoren für die Auslösung einer Reisethrombose**

- Dauer der Reise bzw. zurückgelegte Strecke
- Art des Reisemittels
- Sitzposition bzw. mangelnde Bewegung
- Veränderung der Umgebungsbedingungen (Tag/Nacht, Luftdruck, $O_2$-Gehalt der Atemluft)
- prädisponierende Risikofaktoren des Reisenden

#### Reisedauer

Während aus den meisten Fallberichten und Studien hervorgeht, dass eine lange Reisedauer mit dem Auftreten von thromboembolischen Ereignissen assoziiert ist, konnte dies in anderen Untersuchungen nicht bestätigt werden (Kraaijenhagen et al. 2000; Dimberg et al. 2001). Deshalb lassen sich auch keine verlässlichen Angaben zu einer minimalen Reisedauer machen, die vor dem Auftreten einer Thrombose schützt. Auch die Studie von Lapostolle und Mitarbeitern (2001) erlaubt keine eindeutigen Rückschlüsse in diese Richtung, obwohl beschrieben wird, dass das Risiko für eine Lungenembolie bei Flügen über eine Distanz von 10.000 km auf das etwa 500-fache gegenüber Flügen unter 5.000 km ansteigt (Lapostelle et al. 2001).

In einer prospektiven kontrollierten Kohortenstudie von Schwarz und Mitarbeitern (2003) wurde gefunden, dass nach Non-stop-Flügen über mehr als 8 h fast 3-mal so viele asymptomatische Muskelvenenthrombosen im Unterschenkel auftraten wie bei Nichtreisenden. Alle diese Patienten hatten aber mindestens einen prädisponierenden Risikofaktor für Thrombosen, sodass auch diese Studie keine Antwort auf den Stellenwert der Reisedauer geben kann (Schwarz et al. 2003). Insgesamt kann man heute wohl davon ausgehen, dass eine längere Reisedauer das absolute Thromboserisiko bei Personen ohne klinische Risikofaktoren kaum erhöht.

#### Art des Transportmittels

Einige Studien belegen, dass eine Reisethrombose prinzipiell nicht nur bei Flugpassagieren, sondern auch bei längeren Reisen im Bus, mit der Bahn oder dem Auto auftreten kann. In einer Untersuchung konnte auch gezeigt werden, dass während und nach längeren Busreisen die Gerinnung aktiviert war (Schobersberger et al. 2004). Insgesamt scheint die Art des Transportmittels bezüglich der Inzidenz von Reisethrombosen keine entscheidende Rolle zu spielen.

#### Sitzposition bzw. mangelnde Bewegung während der Reise

Die frühere Ansicht, dass für das Auftreten von Thrombosen während oder nach langen Flugreisen vorwiegend die gedrängte Sitzposition besonders in der Touristenklasse verantwortlich sei, muss nach den Ergebnissen einer Studie, in der bei 9 von insgesamt 878 untersuchten Reisenden thromboembolische Ereignisse gefunden wurden, wohl revidiert werden. 7 dieser 9 Patienten reisten in der Touristenklasse und 2 in der Business Class. Angesichts der wesentlich höheren Belegung der Touristenklasse muss angenommen werden, dass die Thromboseentstehung nicht zwangsläufig auf diese Buchungsklasse begrenzt ist (Hughes et al. 2003). Diese und weitere Studienergebnisse zeigen, dass es schwierig ist, die Entstehung von Thrombosen ausschließlich im Zusammenhang mit der beengten Sitzposition zu sehen.

#### Veränderung der Umgebungsbedingungen

In mehreren experimentellen Studien wurde geprüft, ob und welche Veränderungen in den Umgebungsbedingungen (Tag/Nacht, Luftdruck, $O_2$-Gehalt der Atemluft) während längerer Reisen eine Rolle spielen könnten. Bezüglich des zirkadianen Rhythmus wurde in einer Studie kein sicherer Einfluss auf die Gerinnung gefunden (Stricker et al. 2003), während in einer anderen Studie zwar geringe, aber dennoch signifikante Unterschiede in einigen der untersuchten Parameter festgestellt wurden (Landgraf et al. 1994).

Um den möglichen Einfluss des in der Kabine von Verkehrsflugzeugen herrschenden niedrigeren Luftdrucks zu untersuchen, wurden gesunde freiwillige Personen für 8 h in einer Unterdruckkammer, in welcher der Luftdruck auf die atmosphärische Höhe von 2400 Meter reduziert war, eingeschlossen. Die Bestimmung verschiedener Gerinnungsparameter vor und nach dem Ende des Experiments ergab eine signifikante Aktivierung des Gerinnungssystems (Bendz et al. 2000). Im Gegensatz dazu wurde in einer anderen Studie gefunden, dass nach ebenfalls 8-stündigem Aufenthalt in einer Unterdruckkammer die Gerinnung nicht aktiviert war (Toff et al. 2006). In dieser Untersuchung

zeigte sich auch, dass der in der Unterdruckkammer verminderte Sauerstoffgehalt der Atemluft keinen Einfluss auf das Gerinnungssystem hatte.

### Prädisponierende Risikofaktoren des Reisenden

Die Frage, ob und in welchem Ausmaß prädisponierende Risikofaktoren auch die Entstehung einer Reisethrombose fördern, kann wegen unzureichender Datenlage nicht evidenzbasiert beantwortet werden. Die verlässlichsten Zahlen können der Arbeit von Schwarz et al. (2003) entnommen werden, in der bei allen 27 Patienten, bei denen eine Muskelventhrombose diagnostiziert worden war, mindestens ein prädisponierender Risikofaktor vorlag, und zwar am häufigsten hohes Lebensalter oder Adipositas.

**! Es ist also davon auszugehen, dass prädisponierende Risikofaktoren – wie in der Chirurgie und bei akuten internistischen Erkrankungen – die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von reisebedingten thromboembolischen Ereignissen erhöhen können.**

## Literatur

Akl EA, Karmath G, Yosuico V et al. (2007) Anticoagulation for thrombosis prophylaxis in cancer patients with central venous catheters (Review). The Cochrane Collaboration. The Cochrane Library, Issue 3

Anderson FA Jr, Wheeler HB, Goldberg RJ et al. (1991) A population-based perspective of the hospital incidence and case-fatality rates of deep vein thrombosis and pulmonary embolism. The Worcester DVT Study. Archives of internal medicine 151(5): 933–8

Bendz B, Rostrup M, Sevre K et al. (2000) Association between acute hypobaric hypoxia and activation of coagulation in human beings. Lancet 356(9242): 1657–8

Bern M, Lokich JJ, Wallach SR et al. (1990) Very low doses of warfarin can prevent thrombosis in central venous catheters. A randomized prospective trial. Annals of internal medicine 112(6): 423–8

Couban S, Goodyear M, Burnell M et al. (2005) Randomized placebo-controlled study of low-dose warfarin for the prevention of central venous catheter-associated thrombosis in patients with cancer. J Clin Oncol 23(18): 4063–9

Dimberg LA, Mundt KA, Sulsky SI et al. (2001) Deep venous thrombosis associated with corporate air travel. J Travel Med 8(3): 127–32

Fraisse F, Holzapfel L, Couland JM et al. (2000) Nadroparin in the prevention of deep vein thrombosis in acute decompensated COPD. The Association of Non-University Affiliated Intensive Care Specialist Physicians of France. American J respirator crit care med 161(4 Pt 1): 1109–14

Haas S (2004) Thromboembolieprophylaxe in der Chirurgie. Der Unfallchirurg 107(11): 1065–86

Heit JA, Silverstein MD, Mohr DN et al. (2000) Risk factors for deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a population-based case-control study. Archives of internal medicine 160(6): 809–15

Hughes RJ, Hopkins RJ, Hill S et al. (2003) Frequency of venous thromboembolism in low to moderate risk long distance air travellers: the New Zealand Air Traveller's Thrombosis (NZATT) study. Lancet 362(9401): 2039–44

Imberti D, Agnelli G, Ageno W et al. (2008) Clinical characteristics and management of cancer-associated acute venous thromboembolism: findings from the MASTER Registry. Haematologica 93(2): 273–8

Karthaus M, Kretzschmar A, Kroning H et al. (2006) Dalteparin for prevention of catheter-related complications in cancer patients with central venous catheters: final results of a double-blind, placebo-controlled phase III trial. Ann Oncol 17(2): 289–96

Kemkes-Matthes (2005) Prophylaxe bei Tumorpatienten. In: Haas S (Hrsg) Prävention von Thrombosen und Embolien in der Inneren Medizin. Heidelberg: Springer, S 162

Khorana AA (2007) The NCCN Clinical Practice Guidelines on Venous Thromboembolic Disease: strategies for improving VTE prophylaxis in hospitalized cancer patients. The oncologist 12(11): 1361–70

Kraaijenhagen RA, Haverkamp D, Koopman mm et al. (2000) Travel and risk of venous thrombosis. Lancet 356(9240): 1492–3

Landgraf H, Vanselow B, Schulte-Huermann D et al. (1994) Economy class syndrome: rheology, fluid balance, and lower leg edema during a simulated 12-hour long distance flight. Aviation, space, and environmental medicine 65(10 Pt 1): 930–5

Laporte S, Mismetti P, Decousus H et al. (2008) Clinical predictors for fatal pulmonary embolism in 15,520 patients with venous thromboembolism: findings from the Registro Informatizado de la Enfermedad TromboEmbolica venosa (RIETE) registry. Circulation 117(13): 1711–6

Lapostolle F, Surget V, Borron SW et al. (2001) Severe pulmonary embolism associated with air travel. New England J Med 345(11): 779–83

Lassen MR, Borris LC, Nakov RL (2002) Use of the low-molecular-weight heparin reviparin to prevent deep-vein thrombosis after leg injury requiring immobilization. New England J Med 347(10): 726–30

Monreal M, Lafoz E, Olive A et al. (1994) Comparison of subcutaneous unfractionated heparin with a low molecular weight heparin (Fragmin) in patients with venous thromboembolism and contraindications to coumarin. Thrombosis and haemostasis 71(1): 7–11

Nicolaides AN, Arcelus J, Belcaro G et al. (1992) Prevention of venous thromboembolism. European Consensus Statement, 1–5 November 1991, developed at Oakley Court Hotel, Windsor (UK). Int Angiol 11(3): 151–9

Samama MM, Cohen AT, Darmon JY et al. (1999) A comparison of enoxaparin with placebo for the prevention of venous thromboembolism in acutely ill medical patients. Prophylaxis in Medical Patients with Enoxaparin Study Group. New England J Med 341(11): 793–800

Schobersberger W, Mittermayr M, Innerhofer P et al. (2004) Coagulation changes and edema formation during long-distance bus travel. Blood Coagul Fibrinolysis 15(5): 419–25

Schwarz T, Siegert G, Oettler W et al. (2003) Venous thrombosis after long-haul flights. Archives of internal med 163(22): 2759–64

Stricker H, Colucci G, Godio M et al. (2003) The influence of a prolonged sitting position on the biochemical markers of coagulation activation in healthy subjects: evidence of reduced thrombin generation. J Thromb Haemost 1(2): 380–1

Toff WD, Jones CI, Ford I et al. (2006) Effect of hypobaric hypoxia, simulating conditions during long-haul air travel, on coagulation, fibrinolysis, platelet function, and endothelial activation. Jama 295(19): 2251–61

Verso M, Agnelli G, Bertoglio S et al. (2005) Enoxaparin for the prevention of venous thromboembolism associated with central vein catheter: a double-blind, placebo-controlled, randomized study in cancer patients. J Clin Oncol 23(18): 4057–62

Wessler S, Reiner L, Freiman DG et al. (1959) Serum-induced thrombosis. Studies of its induction, and evolution under controlled conditions in vivo. Circulation 20: 864–74

## 31.2 Beinvenenthrombose

*B. Pötzsch, E. Rabe*



### Einleitung

Venöse Thrombosen betreffen mit einer Häufigkeit von weit über 90% das tiefe Beinvenensystem. Durch Verschleppung von Thrombusmaterial können Lungenembolien entstehen, deren Stärke im Wesentlichen durch die Größe des Thrombus bestimmt wird. Durch eine Störung der Klappenfunktion kann es zur Ausbildung eines postthrombotischen Syndroms mit der Gefahr einer Ulcus-cruris-Bildung kommen. Eine schmerzhafte Schwellung des betroffenen Beins mit Überwärmung und Hautrötung sind auf eine Thrombose hinweisende Symptome.

Die diagnostische Sicherung erfolgt bildgebend. Ein im Referenzbereich liegender D-Dimer-Wert schließt das Vorliegen einer tiefen Beinvenenthrombose mit einem prädiktiven Wert von 98–99% aus.

Die Behandlung der tiefen Beinvenenthrombose erfolgt in den meisten Fällen ambulant. Ziel der Antikoagulanzienbehandlung ist es, das Thrombuswachstum zu stoppen und dadurch die endogene Lyse des Thrombus und dessen Reorganisation zu beschleunigen. Zu den lokalen Maßnahmen gehört ein Kompressionsverband, der zur Schmerzlinderung beiträgt und das Risiko ein postthrombotisches Syndrom zu entwickeln senken kann. Die tiefe Beinvenenthrombose hat ein hohes Rezidivrisiko. Deswegen wird im Anschluss an die Akutbehandlung eine Sekundärprophylaxe mit oralen Antikoagulanzien eingeleitet, deren Dauer vom Thromboserisiko des Patienten bestimmt wird.

Durch eine systematische Primärprophylaxe kann die Häufigkeit von tiefen Beinvenenthrombosen in Risikosituationen, wie operativen Eingriffen, signifikant gesenkt werden. In der täglichen Routine hat sich zur primären Thromboseprophylaxe eine Kombination aus dem Tragen von Kompressionsstrümpfen und einer Antikoagulanzientherapie bewährt. Die am häufigsten eingesetzten Antikoagulanzien sind niedermolekulare Heparine.

### 31.2.1 Pathogenese

Die venöse Thrombose manifestiert sich zu mehr als 90% im tiefen Beinvenensystem. Daraus kann geschlossen werden, dass die dort vorliegenden lokalen Gegebenheiten das Entstehen einer venösen Thrombose besonders begünstigen. Das tiefe Beinvenensystem ist anfällig für eine Verlangsamung der Blutströmung. Insbesondere im Bereich der Venenklappen kommt es zu Veränderungen des laminären Strömungsprofils mit Regionen kompletter Stase und Regionen einer funktionellen Stase durch zirkuläre Strömungen. Durch die relativ großlumigen Venen kommt es zu einem ungünstigen Verhältnis zwischen antikoagulatorisch wirkender Endothelzelloberfläche und Blutvolumen. Daraus kann leicht eine Hyperkoagulabilität entstehen, die einen weiteren Pathogenitätsfaktor in der Thrombogenese darstellt (▶ Kap. 31.1).

Es können 3 Verlaufsformen unterschieden werden:
- die aszendierende Verlaufsform,
- die deszendierende Verlaufsform,
- die transfasziale Verlaufsform.

Die aszendierende Verlaufsform betrifft etwa 90% aller tiefen Beinvenenthrombosen. Diese Form der Thrombose hat ihren Ursprung in den Wadenvenen (Muskelvenen, paarige tiefe Wadenvenen) und aszendiert über die V. poplitea nach femoral und iliakal. Nach Erreichen der Popliteaetage besteht ein signifikant erhöhtes Lungenembolierisiko.

Bei der deszendierenden Verlaufsform ist der Entstehungsort der Thrombose in der Beckenetage lokalisiert. Das Thrombuswachstum erfolgt deszendierend über das Leistenband nach femoral und popliteal. Ausgelöst durch den Venensporn nach May und Thurner findet sich die deszendierende tiefe Beinvenenthrombose meist linksseitig.

In der transfaszialen Verlaufsform entsteht die Thrombose in der V. saphena magna oder parva. Nach Aszension kann die Thrombose über die proximale Mündungsklappe die V. femoralis communis (V. saphena magna) oder V. poplitea (V. saphena parva) erreichen.

### 31.2.2 Klinik

Die Symptomatik der tiefen Beinvenenthrombose ist abhängig von dem betroffenen Gefäßareal. Sie zeigt darüber hinaus erhebliche interindividuelle Unterschiede. Einige Patienten entwickeln auch bei langstreckigen Thrombosen keine oder eine nur schwach ausgeprägte Symptomatik, wohingegen andere Patienten bereits bei Muskelvenenthrombosen über ausgeprägte Missempfindungen und Schmerzen klagen (siehe Übersicht).

**Symptome der tiefen Beinvenenthrombose**
- Schwellung und Ödembildung des betroffenen Beins
- Rötung und Überwärmung
- Ruhe- und Bewegungsschmerzen

Die Schwellung und Ödembildung ist eine direkte Folge der intravasalen Lumenverlegung durch das Thrombusmaterial. Die Ödembildung ist anfänglich auf das Gewebe distal der Thrombose lokalisiert. Sie kann im weiteren Krankheitsverlauf auch Gewebeareale proximal der Thrombose erreichen. Weiter verstärkt wird die Ödembildung durch eine lokale Entzüngungsreaktion. Diese wird durch freigesetzte Zytokine und durch eine hypoxische Schädigung ausgelöst. Die Ödembildung und Schwellung der betroffenen Extremität ist mit einer signifikanten Umfangsvermehrung im Vergleich zur kontralateralen Seite verbunden. Die Schwellung ist umso stärker ausgeprägt, je weiter proximal die Thrombose lokalisiert ist und je größer das von der Abflussstörung betroffene Gefäßareal ist. Durch eine sekundäre Lymphabflussstörung wird die Ödembildung weiter verstärkt.

Die lokale Überwärmung und Rötung des betroffenen Areals ist auf die nichtinfektiöse Entzüngung zurückzuführen. Von den meisten Patienten wird eine lokale Kühlung der betroffenen Region als angenehm empfunden. Auch die Schmerzsymptomatik ist eine unmittelbare Folge der ödematösen Schwellung des Gewebes. Die Schmerzintensität ist interindividuell sehr unterschiedlich und kann sowohl in Ruhe als auch bei Belastung auftreten. Häufig berichten Patienten über ein dumpfes Schmerzempfinden in der betroffenen Extremität. Vor Einführung der bildgebenden Diagnostik wurden verschiedene Schmerzpunkte definiert, die zur Diagnosestellung der tiefen Beinvenenthrombose eingesetzt wurden. Die Sensitivität und Spezifität dieser klinischen Diagnosezeichen ist gering, sodass sie im klinischen Alltag keine Bedeutung mehr spielen.

### 31.2.3 Diagnostik

Ziel der Diagnostik ist es, den klinischen Verdacht einer tiefen Beinvenenthrombose zu bestätigen oder auszuräumen. Wird eine Thrombose gesichert, sollte die Ausdehnung nach Etagen (isoliert distal, popliteal, femoral, iliakal) angegeben werden können. Während der Ausschluss einer Thrombose in vielen Fällen auch ohne Bildgebung möglich ist, ist diese für den eindeutigen Nachweis zwingend erforderlich.

#### Klinische Wahrscheinlichkeit

Wichtigstes und bislang in der Klinik zu wenig genutztes Instrument der Diagnostik ist die Ermittlung der sogenannten klinischen Vortestwahrscheinlichkeit. Sie trennt mit einfachen Angaben aus Anamnese und körperlichem Untersuchungsbefund, d. h. mit geringstem Aufwand, 2 Patientengruppen voneinander (Wells et al. 1995; Qaseem et al. 2007). In der Gruppe mit niedriger Wahrscheinlichkeit befinden sich nur noch weniger als 10% Thrombosepatienten, in der Gruppe mit hoher Wahrscheinlichkeit befinden sich über 40–50%. Auf der Basis dieser Diskriminierung können die weiteren diagnostischen Schritte gezielter zur Anwendung gebracht werden.

Die Ermittlung der klinischen Wahrscheinlichkeit kann intuitiv auf der Basis persönlicher Erfahrung allein oder aber mithilfe formalisierter Scores vorgenommen werden. Der bekannteste ist der Wells-Score (Wells et al. 1997, AWMF Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Phlebologie 2003). Nach diesem Score besteht ab einem Wert ≥3 eine hohe Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer tiefen Beinvenenthrombose. Bei Werten von 1–2 liegt eine mittlere und bei einem Wert <1 eine geringe Thrombosewahrscheinlichkeit vor (Tab. 31.13).

**Tab. 31.13.** Modifizierter Wells-Score der Deutschen Gesellschaft für Phlebologie

| Parameter | Punkte |
|---|---|
| Aktives Malignom | 1 |
| Lähmung, kürzliche Immobilisation durch Gelenkfixation (Gips etc.) | 1 |
| Kürzliche Bettlägerigkeit (>3 Tage) oder große Operation | 1 |
| Schwellung des gesamten Beins | 1 |
| Differenz der Unterschenkeldurchmesser >3 cm | 1 |
| Eindrückbares Ödem (mehr im symptomatischen Bein) | 1 |
| Sichtbare oberflächliche nicht variköse Kollateralvenen | 1 |
| Alternative Diagnose wahrscheinlicher als TVT | -2 |

≥3 hohe Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer tiefen Beinvenenthrombose; 1–2 mittlere Thrombosewahrscheinlichekit; <1 geringe Thrombosewahrscheinlichkeit

## D-Dimer-Bestimmung

Das Fibrinfragment D-Dimer ist ein Reaktionsprodukt der plasmininduzierten Proteolyse von quervernetztem Fibrin. Bei einer akuten tiefen Beinvenenthrombose kommt es durch die intravasale Fibrinbildung mit sekundärer Fibrinolyseaktivierung zu einem Anstieg der D-Dimer-Werte.

**! Ein erhöhter D-Dimer-Wert kann deswegen den Verdacht einer tiefen Beinvenenthrombose untermauern, wohingegen ein im Referenzbereich liegender D-Dimer-Wert das Vorliegen einer akuten tiefen Beinvenenthrombose weitgehend ausschließt.**

Dies wurde durch eine Vielzahl von Diagnosestudien belegt. Die Wahrscheinlichkeit für einen Thrombosenachweis in den folgenden 3 Monaten bei negativem D- Dimer-Wert lag zwischen 0–1,6% (Michiels et al. 2006). Die diagnostische Spezifität kann durch die Berücksichtigung der klinischen Wahrscheinlichkeit noch gesteigert werden.

Zu einer verstärkten Fibrinbildung mit anschließender Fibrinolyse kommt es auch bei verschiedenen anderen Erkrankungen wie akuten Entzündungen, systemischen Erkrankungen und nach Verletzungen. Aus diesem Grund ist ein erhöhter D-Dimer-Wert kein sicheres diagnostisches Kriterium zum Nachweis einer tiefen Beinvenenthrombose. Insbesondere darf in der klinischen Routine ein aus anderem Grund – oder ohne klare Fragestellung – angeordneter D-Dimer-Test mit positivem Ergebnis nicht zur Verdachtsdiagnose akute tiefe Venenthrombose führen, mit einer daraus abgeleiteten Notwendigkeit für eine weitergehende Diagnostik.



## Duplexsonographie

Seit Mitte der 1980er-Jahre ist bekannt, dass sich tiefe Beinvenenthrombosen mithilfe des Ultraschalls gut darstellen lassen. Die Entwicklung der verschiedenen Modalitäten der Gefäßsonographie (B-Bild, PW-Doppler, Farbdoppler) hat zur Definition unterschiedlicher diagnostischer Kriterien geführt:

- In der reinen B-Bild-Sonographie ist das diagnostische Kriterium die Nicht-Kompressibilität des im Querschnitt dargestellten venösen Segments (Kompressionssonographie); als weniger verlässlich und daher nur als Hilfskriterium dient der Nachweis echogenen Materials im an sich echofreien Intravasalraum.
- Im PW-Doppler weist das völlige Fehlen eines Flusssignals – und dies auch bei Kompression der Venen distal des Ableiteorts – auf die thrombotische Verlegung des im Längsschnitt untersuchten Venensegements hin; das Fehlen der Atemmodulation des Flusssignals in einem untersuchten Segment ist ein indirekter Hinweis auf ein weiter proximal gelegenes Strömungshindernis.
- In der Farbduplexsonographie entspricht das Fehlen des farbkodierten Flusssignals einem okkludierenden oder nicht okkludierenden Gerinnsel.

**! Das am wenigsten für Artefakte und Fehldeutungen anfällige Kriterium ist die Nicht-Kompressibilität, sodass die Kompressionssonographie als bevorzugte Modalität gelten muss.**

Eine Vielzahl von Studien haben Sensitivität und Spezifität, negativen und positiven Vorhersagewert des venösen Ultraschalls gegenüber dem historischen Standard, der Phlebographie, untersucht. Metaanalysen dieser Studien ergeben übereinstimmend, dass die Sensitivität und damit der negative Vorhersagewert für die proximalen Venenabschnitte (V. poplitea und V. femoralis) hervorragend sind, während sie für die distalen Venen (paarige Wadenvenen,

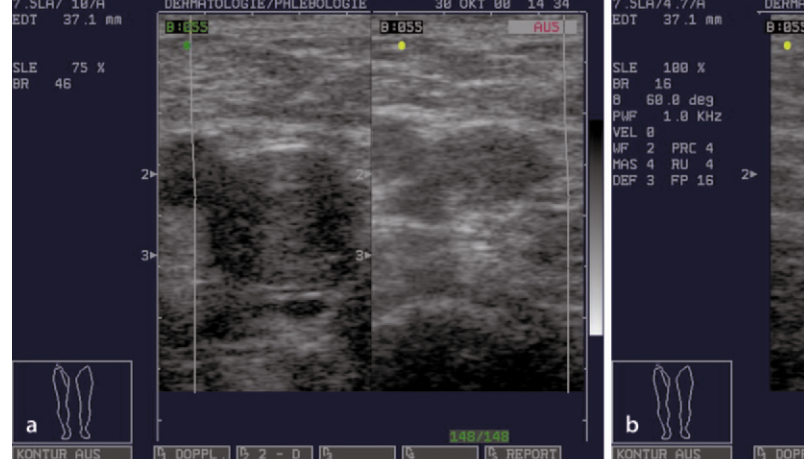






**Abb. 31.4a,b.** Duplexsonographische Darstellung einer tiefen Beinvenenthrombose. **a** Thrombotischer (Teil-)Verschluss der V. femoralis, Nicht-Komprimierbarkeit im sonographischen Kompressionstest (rechte Seite), **b** thrombotischer (Teil-)Verschluss der V. femoralis, in der Duplexsonographie Flussaussparung mit Randfluss um den Thrombus herum

Wadenmuskelvenen) deutlich geringer ausfallen. Die Spezifität liegt regelmäßig im Bereich von 95% und stellt damit kein wesentliches Problem dar. Eine jüngere Metaanalyse hat zusätzlich ergeben, dass mit Hinzunahme mehrerer Kriterien die Sensitivität steigt, die Spezifität, insbesondere an den distalen Venen, dagegen sinkt (Kearon et al. 1998; Orbell et al. 2008).

Das Problem derartiger Betrachtungen besteht darin, dass die Ultraschalluntersuchung der Venen bislang nicht standardisiert wurde und damit die untersucherspezifische Performance das Ergebnis jeder Einzelstudie stark beeinflusst. So wundert es nicht, dass einzelne Autoren auch für die distalen Venen eine Sensitivität von 98% erreichen können.

Neben der klassischen Methode der externen Validierung gegen einen Standard besteht ein alternativer Ansatz darin, in sogenannten Managementstudien den prozeduralen Wert des venösen Ultraschalls zu evaluieren. Wenn in einem 3- oder 6-monatigen Follow-up nur ein sehr geringer Prozentsatz aller als negativ getesteten Patienten mit Verdacht auf Beinvenenthrombose doch noch eine symptomatische venöse Thromboembolie entwickeln, kann daraus geschlossen werden, dass praktisch alle tatsächlich vorliegenden Thrombosen erkannt wurden.

Für die einmalige vollständige, d. h. die proximalen wie die distalen Venen umfassende Untersuchung haben inzwischen 4 unabhängig voneinander durchgeführte Untersuchungen gezeigt, dass die diagnostische Sicherheit sehr groß ist. Dies Ergebnis ist ein starker Hinweis darauf, dass die Sensitivität des distalen Ultraschalls durch entsprechendes Training durchaus auf die Werte für den proximalen Ultraschall angehoben werden kann. Von Interesse ist, dass in diesen Studien der Prozentsatz von Patienten, bei denen die vollständige Untersuchung aus verschiedenen Gründen nicht möglich war, nur bei ca 1% lag.

Bei der einzeitigen vollständigen Untersuchung findet man in ca. 25–50% isolierte distale Thrombosen bei Patienten mit einer hohen klinischen Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Thrombose. Die Implikationen dieses Befunds für die Therapie sind Gegenstand einer kontroversen Diskussion. Unbestrittener zusätzlicher Vorteil der vollständigen Untersuchung dagegen ist die Erfassung anderer Pathologien, die die Beschwerden des Patienten erklären können, so z. B. die Baker-Zyste mit und ohne Ruptur, das muskuläre Hämatom oder der Muskelfaserriss in der Wade.

Die sonographische Diagnose einer Rezidivthrombose ist mit Unsicherheiten belastet, da es kein verlässliches sonographisches Kriterium für das Alter eines Thrombus gibt. Sehr aussagekräftig ist der sonographische Befund aber dann, wenn von der vorhergehenden Thrombose eine Dokumentation des Abschlussbefundes vorliegt. Sind im Vergleich zur Voruntersuchung bisher nicht betroffene Segmente thrombosiert oder hat der Diameter eines Restthrombus signifikant zugenommen, kann von einem frischen Rezidiv ausgegangen werden.

**! Aus diesem Grund ist zu fordern, dass grundsätzlich 3–6 Monate nach einer frischen TVT der sonographische Restbefund gut dokumentiert wird.**

### Phlebographie

Die Phlebographie galt lange Zeit als Referenzmethode in der Diagnostik der tiefen Beinvenenthrombose. In der Tat ist es möglich, alle Venenabschnitte in einem Untersuchungsgang vollständig abzubilden. Das Kriterium der in 2 Ebenen dargestellen Kontrastmittelaussparung als Abbild des intravasalen Thrombus ist valide und eindeutig. Indirekte Zeichen können einen guten Hinweis auf das Alter der Pathologie liefern (wandständiger Thrombus, verschmächtigte Venen, Kollateralvenen).

**! Die Phlebographie ist eine semi-invasive Methode mit einer nicht geringen Strahlenbelastung und der Gefahr von Nierenversagen und Hyperthyreose durch das Kontrastmittel. Sie ist zudem häufig unangenehm oder sogar schmerzhaft.**

Zu bedenken ist zusätzlich, dass die Untersuchererfahrenheit inzwischen stark zurückgegangen ist, seit die Phlebographie in der klinischen Routine durch den Ultraschall stark zurückgedrängt wurde. Sie hat heute den Stellenwert einer Rückfalllösung bei Patienten, bei denen mit dem Ultraschall als Bildgebung die klinische Situation nicht zu meistern ist. In Studien, in denen hauptsächlich nach asymptomatischen Thrombosen gesucht wird, hat die Phlebograhie aber durchaus weiter einen hohen Stellenwert.

### Computertomographie

Mit der kontrastmittelgestützten Computertomographie ist eine sichere Thrombosediagnostik möglich. Genau wie bei der Phlebographie wird das Kontrastmittel über eine Vene am Fußrücken injiziert. Die Ergebnisse sind vergleichbar mit der Phlebographie und erreichen eine Sensitivität von annähernd 100% und eine Spezifität von 96% für die distale und proximale tiefe Beinvenenthrombose. Besonders gut geeignet ist das Verfahren um eine Ausdehnung des thrombotischen Prozesses in die Beckenvenen und die untere V. cava zu beurteilen. Alternativ kann das Kontrastmittel intravenös über eine Armvene injiziert werden.

Cham und Mitarbeiter (2000) verglichen die Ergebnisse der CT-Untersuchung (Konstratmittelgabe über die Armvenen) mit den duplexsonographischen Befunden bei 182 Patienten und konnten in 93% übereinstimmende Ergebnisse erzielen; 3% zeigten gegenläufige Befunde (falsch positive CT-Befunde) und 3% hatten nicht beurteilbare CT-Befunde (Cham et al. 2000). Mit der duplexsonographischen Untersuchung konnte bei allen Patienten mit nicht beurteil-

baren CT-Befunden eine tiefe Beinvenenthrombose ausgeschlossen werden. Ähnliche Befunde wurden von anderen Untersuchungsgruppen erhoben.

**! Daraus kann geschlossen werden, dass die CT-Untersuchung in der Diagnose der tiefen Beinvenenthrombose keine Methode der ersten Wahl darstellt.**

### Magnetresonanztomographie

Die Magnetresonanztomographie kann in der Diagnostik der tiefen Beinvenenthrombose mit und ohne Kontrastmittel eingesetzt werden. Bei proximalen Venen ist sie in ihrer Aussagewertigkeit mit der Phlebographie und Duplexsonographie vergleichbar, im Beckenbereich sogar überlegen (Orbell et al. 2008).

### Diagnostische Algorithmen

Die vorgenannten diagnostischen Methoden sollten planvoll miteinander kombiniert werden, um eine möglichst große Zahl von Verdachtsfällen mit einem möglichst geringen Aufwand so zu bearbeiten, dass die Patientensicherheit maximal ist. Eine zentrale Rolle hierbei spielen die wenig aufwendigen Methoden der klinischen Wahrscheinlichkeit und des D-Dimer-Tests.

Die Aufarbeitung jedes Verdachtsfalls beginnt mit der Schätzung der klinischen Wahrscheinlichkeit. Ist diese hoch, folgt unmittelbar die Bildgebung – ohne dass ein D-Dimer-Test durchgeführt werden muss. Ist die klinische Wahrscheinlichkeit niedrig, soll ein D-Dimer-Test durchgeführt werden. Ist dieser negativ, hat der Patient mit so großer Wahrscheinlichkeit keine Thrombose, dass auf eine Antikoagulation verzichtet werden kann, ohne dass eine Bildgebung durchgeführt werden muss. Ist trotz niedriger klinischer Wahrscheinlichkeit der D-Dimer-Test positiv, muss eine Bildgebung angeschlossen werden. Mithilfe von klinischer Wahrscheinlichkeit und D-Dimer-Test lassen sich 30–40% aller Verdachtsfälle ohne Bildgebung lösen (Abb. 31.5).

Als Bildgebung der ersten Wahl wird die vollständige Kompressionssonographie vorgeschlagen. Bei adäquatem Training sollten sich damit 98–99% aller Patienten so untersuchen lassen, dass ein endgültiges Ergebnis vorliegt. Ist der sonographische Befund nicht eindeutig, kann eine Phlebographie angeschlossen werden, wenn das endgültige Ergebnis sofort gewünscht ist. Eine Alternative besteht darin, es bei der Untersuchung der proximalen Venen bewenden zu lassen – hier sollte das Ergebnis immer eindeutig sein – und nach 4–7 Tagen eine Wiederholungsuntersuchung durchzuführen, um eine eventuell übersehene distale Thrombose, die in der Zwischenzeit nach proximal propagiert ist, zu entdecken.

Ist eine technisch befriedigende Ultraschalluntersuchung nicht verfügbar, z. B. in der Nacht oder am Wochenende, kann für alle Patienten, die entsprechend des Algorithmus eine Bildgebung benötigen, mit der Behandlung begonnen werden, bis die Bildgebung Klarheit schafft. Dies sollte innerhalb der nächsten 24 oder 36 h der Fall sein. Das Blutungsrisiko bei therapeutischer Antikoagulation, z. B. mit niedermolekularem Heparin, ist so gering, dass die »überflüssige« Behandlung von Patienten ohne Thrombose für diese Zeitspanne durchaus verantwortet werden kann. Die nächtliche Phlebographie zum Ausschluss einer Thrombose sollte daher der Vergangenheit angehören.

## 31.2.4 Therapie

Im optimalen Fall sollte die Therapie der venösen Thrombose die komplette Rückbildung des Gerinnsels mit einer Wiederherstellung der Integrität der betroffenen Gefäßregion ermöglichen. Gleichzeitig sollte eine embolische Verschleppung des Thrombus und die Ausbildung eines postthrombotischen Syndroms verhindert werden. Mit den zurzeit verfügbaren therapeutischen Maßnahmen, die im Wesentlichen aus einer Antikoagulanzientherapie und einer lokalen Kompressionsbehandlung bestehen, können diese Ziele nur partiell erreicht werden.

### Antikoagulanzientherapie

In der Pathophysiologie der venösen Thrombose kommt der Hyperkoagulabilität eine zentrale Bedeutung zu. Die Antikoagulanzientherapie verfolgt das Ziel, die Hyperkoagulabilität zu unterbrechen und dadurch das Thrombuswachstum zu verhindern oder zumindest einzuschränken. Die Antikoagulanzientherapie selbst entfaltet keine fibrinolytische Wirkung, sie kann aber verhindern, dass durch endogene Lyse aufgelöste Thrombusanteile durch neues thrombotisches Material ersetzt werden.

Die Wirksamkeit dieser aus pathophysiologischen Überlegungen abgeleiteten Antikoagulanzientherapie ist so eindeutig, dass bereits nach den ersten beiden Studien mit einer geringen Anzahl von Patienten ein Randomisierungsarm mit Verzicht auf eine Antikoagulanzienbehandlung als ethisch nicht vertretbar galt (Crane 1951).

**! In einer Vielzahl von prospektiven und randomisierten klinischen Studien konnte gezeigt werden, dass niedermolekulare Heparine in der Akutbehandlung der venösen Thrombose dem unfraktionierten Heparin überlegen sind.**

Dabei verringern niedermolekulare Heparine die Mortalitätsrate effektiver als unfraktioniertes Heparin und senken auch das Risiko für das Auftreten von therapiepflichtigen Blutungskomplikationen (Gould et al. 1999). Erklärt wird dieses verbesserte Wirkungs- und Nebenwirkungsprofil der

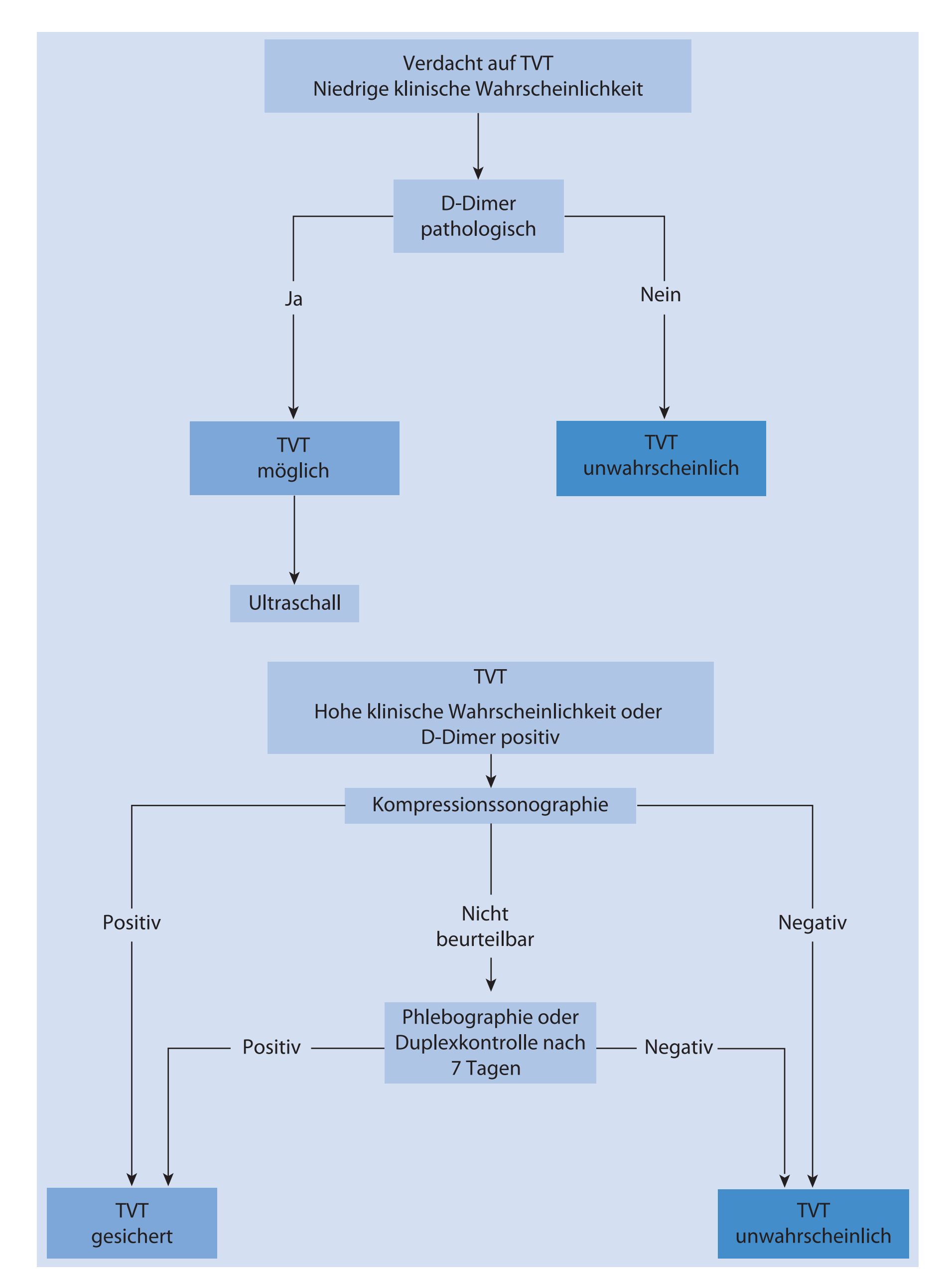



**Abb. 31.5.** Diagnostischer Algorithmus zur tiefen Beinvenenthombose

niedermolekularen Heparine v. a. durch ihre bessere Bioverfügbarkeit, die unmittelbar nach Injektion zu deutlich stabileren Plasmakonzentrationen führt. Grundsätzlich sind alle zur Thrombosebehandlung zugelassenen niedermolekularen Heparine in ihrer Effektivität vergleichbar. Ein Behandlungsvorteil eines niedermolekularen Heparins gegenüber einem anderen existiert zurzeit nicht.

Die Antikoagulanzientherapie sollte unmittelbar nach Diagnosestellung einer venösen Thrombose eingeleitet werden. Besteht eine Kontraindikation gegen eine therapeutische Antikoagulation, wie z. B. bei Patienten mit akuter intrazerebraler Blutung oder in der frühen postoperativen Phase nach einem neurochirurgischen Eingriff, sollte eine Antikoagulation in prophylaktischer Dosierung angestrebt werden. In dieser Situation ist ein unfraktioniertes Heparin besser geeignet, da es durch die wesentlich kürzere Halbwertszeit besser steuerbar ist und im Notfall die Möglichkeit einer Antagonisation besteht. Durch die Anlage eines passageren Cavaschirms kann das Lungenembolierisiko reduziert werden.

Besteht eine Kontraindikation gegen die Gabe eines Heparins aufgrund einer vorbekannten oder akuten heparininduzierten Thrombozytopenie, stehen eine Reihe von Heparinalternativen zur Verfügung, zu denen die Thrombininhibitoren Argatroban und Bivalirudin, das Heparinoid Danaparoid sowie Fondaparinux gehören (▶ Kap. 31.1.3).

Die Gabe eines niedermolekularen Heparins in therapeutischer Dosierung erfordert keine laboranalytische Überwachung der Antikoagulanzienwirkung. Eine Ausnahme bilden Patienten mit einem hohen Blutungsrisiko und Patienten mit einer stark eingeschränkten Nierenfunktion. Bei diesen Patienten wird eine Dosisanpassung entsprechend der glomerulären Filtrationsrate empfohlen (▶ Kap. 51.1).

### Lokale Fibrinolyse

Die Rationale für die Durchführung einer Fibrinolysetherapie war die Vorstellung, dass mit einer Entfernung des Thrombusmaterials die Thrombose kausal behandelt werden kann und mögliche Spätfolgen verhindert werden können. Die Erfahrungen mit der systemischen Lyse zeigen jedoch, dass die Häufigkeit eines postthrombotischen Syndroms und auch die Rate an Lungenembolien nicht signifikant gesenkt werden kann, aber schwerwiegende Blutungskomplikationen gehäuft auftreten (Snow et al. 2007). Eine mögliche Erklärung ist, dass durch die Lysetherapie das Thrombusmaterial nicht ausreichend schnell und nicht vollständig entfernt werden kann, sodass die lokale Entzündungsreaktion nicht verhindert wird.

**! Im Vergleich zur systemischen Thrombolysetherapie hat die katheterassistierte lokale Lyse den Vorteil, das Fibrinolytikum unmittelbar an den Wirkort zu bringen. Die dadurch mögliche Reduktion in der Dosierung des Fibrinolytikums führt nicht zu einem systemischen Lyseeffekt.**

Dementsprechend ist die Rate an Blutungskomplikationen deutlich niedriger. Die Wertigkeit einer lokalen Lysetherapie im Vergleich mit dem konservativen Vorgehen wurde an einem Studienkollektiv von Patienten mit einer Bein-Becken-Venenthrombose untersucht (Razavi et al. 2002). Eine Nachuntersuchung nach 6 Monaten zeigte, dass in der Lysegruppe der Anteil der langfristig verschlossenen Gefäße signifikant niedriger war als in der konservativ behandelten Gruppe. Auch ein postthrombotisches Syndrom wurde signifikant seltener beobachtet.

Diese Ergebnisse werden durch eine Reihe von Beobachtungsstudien und Kasuistiken unterstützt (Sugimoto et al. 2003). Trotzdem rechtfertigt die derzeitige Studienlage keine Empfehlung für den routinemäßigen Einsatz einer lokalen Lysetherapie. Die Indikationsstellung zur lokalen Lysetherapie ist eine Einzelfallentscheidung. Sie kann bei Patienten mit ausgedehnten Thrombosen, wie z. B. Ileofemoralvenenthrombosen oder Cavathrombosen zu einem verbesserten klinischen Outcome führen.

### Cavaschirm

Ein Cavaschirm wird mit der Vorstellung implantiert, dass durch die mechanische Bariere aus den tiefen Beinvenensystemen kommende Embolien zurückgehalten werden und dadurch das Entstehen einer Lungenembolie verhindert wird. Es muss jedoch berücksichtigt werden, dass ein Cavaschirm nicht nur ein Fremdmaterial darstellt, sondern auch in der V. cava Gefäßwandschäden induzieren kann und die Strömungsverhältnisse in der V. cava beeinflusst. Daher kann ein Cavaschirm selbst eine Thrombose induzieren und zur Emboliequelle werden. Bei einem Cavaschirm besteht daher grundsätzlich eine Indikation zur Antikoagulation.

Eine Verlaufsbeobachtung an Patienten, denen ein Cavaschirm implantiert wurde und die eine kontinuierliche begleitende Antikoagulation erhielten, zeigte nach 2 Jahren eine signifikant höhere Rate an Rezidivthrombosen in der Cavaschirmgruppe im Vergleich zu Patienten ohne Cavaschirm (20,8% versus 11,6%; White et al. 2000). Diese Ergebnisse konnten durch die Ergebnisse einer Beobachtungsstudie untermauert werden (Hann et al. 2005). Diese Daten zeigen, dass die Indikationsstellung zur Implantation eines Cavaschirms so restriktiv wie möglich gestellt werden sollte.

**! Eine mögliche Indikation stellt ein hohes Lungenembolierisiko bei einer gleichzeitig bestehenden langfristigen Kontraindikation gegen eine Antikoagulanzienbehandlung dar.**

Besteht kurzfristig eine Kontraindikation gegen eine Antikoagulanzienbehandlung und ein hohes Lungenembolierisiko, kann die Anlage eines passageren Cavaschirms eine Alternative darstellen.

### Kompressionsbehandlung

Das Risiko für das Auftreten eines postthrombotischen Syndroms kann durch eine frühe Kompressionsbehandlung und das anschließende Tragen eines Kompressionsstrumpfs um 50% gesenkt werden. Zu diesem Ergebnis kommen 2 klinische Studien, die in einem randomisierten Studiendesign und einer Nachbeobachtungszeit von 5 Jahren die Wirksamkeit von Kompressionsstrümpfen untersucht haben (Brandjes et al. 1997; Prandoni et al. 2004).

Zur Prophylaxe eines postthrombotischen Syndroms wird deswegen das Tragen eines Kompressionsstrumpfs der Klasse 2 für einen Zeitraum von 2–3 Jahren nach dem thrombotischen Ereignis empfohlen. Der Kompressionsstrumpf kann in der Regel wadenlang sein; ein schenkellanger Strumpf ist nur bei Ödem bis oberhalb des Knies erforderlich. Die Kompression muss nur am Tage getragen werden.

### Stationäre versus ambulante Frühtherapie

Im Unterschied zum unfraktionierten Heparin ist die therapeutische Antikoagulation mit niedermolekularen Heparinen durch subkutane Injektion möglich und erfordert keine regelmäßigen Laborkontrollen. Nachdem gezeigt worden war, dass eine strenge Bettruhe die Rate an Lungenembolien nicht signifikant senken kann und eine regelmäßige Bewegung des Beins den Verlauf der Thrombose positiv beeinflusst, waren damit die Grundvoraussetzungen für eine ambulante Behandlung der tiefen Beinvenenthrombose gegeben.

In verschiedenen Studien wurde die Sicherheit und Effektivität einer ambulanten mit der einer stationären Behandlung verglichen (Boccalon et al. 2000; Rodger et al. 2003). Dabei zeigten sich zwischen beiden Behandlungsoptionen keine Unterschiede in der Lungenembolierate, in der Häufigkeit von behandlungspflichtigen Blutungskomplikationen und in der Todesrate. Wird eine ambulante Behandlung der tiefen Beinvenenthrombose durchgeführt, sollte am 3. und zwischen dem 7. und 10. Behandlungstag eine Kontrolluntersuchung zur Beurteilung des Krankheitsverlaufs und zum Ausschluss eines progredienten Thrombuswachstums erfolgen. Wird ein progredientes Thrombuswachstum festgestellt, ist eine Erhöhung der Antikoagulationsstärke erforderlich. In diesen Fällen wird eine stationäre Aufnahme zur weiteren Therapieführung empfohlen.

Eine zumindest kurzfristige stationäre Aufnahme wird auch empfohlen bei folgenden Konstellationen:

- ausgedehnte Thrombosen der Bein- und Beckenvenen,
- Zustand nach tiefer Beinvenenthrombose und Lungenembolie,
- therapiepflichtige Begleiterkrankungen,
- unselbstständige und nicht sozial versorgte Patienten.

### Thrombosetherapie in der Schwangerschaft

Niedermolekulare Heparine sind nicht plazentagängig. Deswegen sind sie auch in der Schwangerschaft Mittel der ersten Wahl zur Thrombosebehandlung. Nach Diagnosestellung der Thrombose wird eine therapeutische Antikoagulation eingeleitet. Das weitere Vorgehen ist vom Alter der Schwangerschaft abhängig (▶ Kap. 31.1.4).

## 31.2.5 Sekundärprophylaxe

Im Schnitt liegt das Rezidivrisiko nach einer venösen Thrombose bei 20% in den folgenden 5 Jahren (Heit 1999). Dies rechtfertigt die Durchführung einer medikamentösen Sekundärprophylaxe. Zurzeit sind Vitamin-K-Antagonisten für diese Indikation Mittel der ersten Wahl. Der angestrebte INR-Zielbereich liegt zwischen 2 und 3. Die Wirksamkeit dieses Behandlungsansatzes ist in vielen prospektiven Studien belegt worden (Snow et al. 2007).

Es wurde auch untersucht, ob nach Ablauf der ersten 3–6 Monate durch eine geringere Antikoagulanzienstärke ein gleich guter Effekt erzielt werden kann. Es konnte gezeigt werden, dass im Vergleich ohne Antikoagulation die orale Antikoagulation mit einem INR-Zielbereich zwischen 1,5 und 2 besser abschneidet (Prevent Investigators 2003). Im Vergleich zur Standardintensität ist die niedrigdosierte orale Antikoagulation jedoch unterlegen (Extended low-intensity anticoagulation for thrombo-embolism investigators 2003). Die Rate an schweren Blutungskomplikationen zeigte zwischen beiden INR-Bereichen keinen signifikanten Unterschied.

**Cave**

Pro Jahr treten bei etwa 2% der oral antikoagulierten Patienten Blutungskomplikationen auf. Davon sind etwa 10% schwerwiegende und lebensbedrohliche Blutungen (Kearon et al. 2003; Linkins et al. 2003).

Aus diesem Grund wird die Sekundärprophylaxe mit Vitamin-K-Antagonisten bis auf wenige Ausnahmen zeitlich begrenzt, obwohl gezeigt werden konnte, dass im Hinblick auf die Vermeidung einer Rezidivthrombose alle Patienten von einer langfristigen Antikoagulanzienbehandlung profitieren würden (Snow et al. 2007).

Die Dauer der Sekundärprophylaxe orientiert sich am Rezidiv- und Blutungsrisiko. Indikatoren für ein erhöhtes Rezidivrisiko sind die Thrombosemanifestation außerhalb einer typischen Risikosituation als sogenannte Spontanthrombose, die Persistenz eines thrombophilen Risikofaktors, wie z. B. eine maligne Erkrankung oder eine Gerinnungsstörung wie den Antiphospholipidantikörpern. Auch eine relativ große Restthrombusgröße, ein schlechter Reorganisationsgrad des Thrombusmaterials oder ein ausgeprägtes postthrombotisches Syndrom rechtfertigen eine längerfristige orale Antikoagulation.

Ein eher geringes Rezidivrisiko besteht bei Patienten, die das thrombotische Ereignis in einer typischen Risikosituation, wie z. B. während eines operativen Eingriffs, entwickelt haben. Inwieweit mithilfe eines Biomarkers wie der D-Dimer-Bestimmung eine Risikobewertung vorgenommen werden kann, ist noch nicht eindeutig geklärt. Einige Untersuchungen deuten auf die Eignung des D-Dimers zur Beurteilung eines erhöhten Thromboserisikos hin (Palareti 2003, 2006). Weitgehend ungeeignet zur Beurteilung des Rezidivrisikos sind genetisch fixierte thrombophile Risikofaktoren, sofern diese nicht mit einem besonders hohen Thromboserisiko einhergehen, wie z. B. dem Antithrombinmangel oder der »compound heterozygosity« für die FV-Leiden- und Prothrombin-G20210A-Mutation.

In ◘ Tab. 31.14 sind Empfehlungen zur Dauer der Rezidivprophylaxe zusammengefasst, die sich an der Throm-

**Tab. 31.14.** Empfehlungen zur Dauer der Sekundärprophylaxe nach tiefer Beinvenenthrombose

| Thrombuslokalisation | Ersthrombose während typischer Risikosituation | Spontane Ersthrombose und/oder milder genetischer Risikofaktor* |
|---|---|---|
| Isoliert distal | 6 Wochen | 3–6 Monate |
| Popliteal bis femoral | 3–6 Monate | 6–12 Monate |
| Iliakal | 6–12 Monate | 12–24 Monate |

*Gilt nicht für Antithrombinmangel, Kombinationsdefekte oder Antiphospholipidsyndrom



buslokalisation und der klinischen Konstellation während der Thrombusentstehung orientieren. Diese Empfehlungen gelten nicht für Patienten mit persistierenden Risikosituationen, wie z. B. malignen Erkrankungen, oder für Patienten mit thrombophilen Risikofaktoren, die mit einem hohen Thromboserisiko einhergehen, wie z. B. einem Antithrombinmangel oder einem Antiphospholipidsyndrom. In diesen Fällen ist eine Einzelfallentscheidung erforderlich.

Oral verfügbare direkte FXa- und Thrombininhibitoren, die zurzeit bereits zur Primärprophylaxe der venösen Thrombose zugelassen sind, werden zukünftig eine Alternative für Vitamin-K-Antagonisten darstellen. Sie haben den Vorteil, dass sie pauschal appliziert werden können und dadurch regelmäßige Laborkontrollen entfallen. Im Vergleich zu den Vitamin-K-Antagonisten sind sie teurer. Ein weiterer Nachteil ist, dass bei einer Überdosierung keine Möglichkeit zur Antagonisation besteht.

## 31.2.6 Primärprophylaxe

Unabhängig von der genetischen Risikodisposition und dem Lebensalter wird das venöse Thromboserisiko durch exogene Risikofaktoren gesteigert (► Kap. 31.1.6). Zu den typischen Risikosituationen zählen u. a. operative Eingriffe, immobilisierende Verbände und maligne Erkrankungen. Das Risiko, nach einem endoprothetischen Hüft- oder Kniegelenkersatz eine tiefe Beinvenenthrombose zu entwickeln, wird ohne Durchführung einer Thromboseprophylaxe mit 40–80% mit einem daraus entstehenden Lungenembolierisiko von mehr als 10–30% angegeben (Heit 2005; Geerts et al. 2004). Aus dieser signifikanten Erhöhung des Thromboserisikos leitet sich die Rationale zur Durchführung einer standardisierten Thromboseprophylaxe in bestimmten klinischen Risikosituationen ab. Zur Thromboseprophylaxe werden physikalische und medikamentöse Maßnahmen eingesetzt.

### Physikalische Thromboseprophylaxe

Ziel der physikalischen Thromboseprophylaxe ist es, durch mechanische Maßnahmen die Stase im tiefen Beinvenensystem zu verhindern. Im erweiterten Sinn ist deswegen die möglichst frühe Mobilisation des Patienten nach einem operativen Eingriff die wichtigste Form der physikalischen Thromboseprophylaxe.

> **! Eine effektive Thromboseprophylaxe kann durch das Tragen von beinlangen Kompressionstrümpfen der Klasse 2 erreicht werden (Amarigiri u. Lees 2000; Borly et al. 2005; Geerts et al. 2004).**

In ihrer prophylaktischen Wirkung noch etwas effektiver sind Bewegungsschienen, die das Bein passiv bewegen, oder die intermittierende pneumatische Wadenkompression (Turpie et al. 1989). Der Einsatz beider Verfahren ist personal- und kostenintensiv und hat sich deswegen in Europa nicht durchgesetzt.

### Medikamentöse Thromboseprophylaxe

Antikoagulanzien werden in der medikamentösen Thromboseprophylaxe mit dem Ziel eingesetzt, die Hyperkoagulabilität zu verhindern oder zumindest deren Ausmaß zu verringern und dadurch das Thromboserisiko zu senken. Dieser Ansatz wurde erstmals mit der subkutanen Gabe von unfraktioniertem Heparin erfolgreich umgesetzt. Inzwischen stehen eine Reihe von Antikoagulanzien zur Verfügung, deren Effektivität zur Thromboseprophylaxe durch klinische Studien belegt wurde. Dazu gehören neben dem unfraktionierten Heparin die niedermolekularen Heparine, das synthetische Heparin Fondaparinux, das Heparinoid Orgaran, die Thrombininhibitoren Hirudin und Dabigatran sowie der direkte FXa-Inhibitor Rivaroxaban (Pharmakologie und Wirkmechanismus siehe ► Kap. 51.2). Thrombozytenfunktionshemmer sind zur venösen Thromboseprophylaxe ungeeignet.

> **! In vielen klinischen Situationen, die eine medikamentöse Thromboseprophylaxe erfordern, besteht ein erhöhtes Blutungsrisiko. Durch die Gabe eines Antikoagulans wird dieses Blutungsrisiko weiter gesteigert. In der Dosisfindung muss deswegen das Thromboserisiko gegenüber dem Blutungsrisiko abgewogen werden.**

Die Empfehlungen zur medikamentösen Thromboseprophylaxe in den verschiedenen klinischen Situationen unterscheiden sich in den empfohlenen Medikamenten, der Dosierung und der Dauer der medikamentösen Thromboseprophylaxe. Entsprechende Leitlinien zur medikamentösen Thromboseprophylaxe unter Berücksichtigung fachspezifischer Besonderheiten sind von verschiedenen Fachgesellschaften auf nationaler und internationaler Ebene formuliert worden.

### Medikamentöse Prophylaxe in der operativen Medizin

Niedermolekulare Heparine und das synthetische Heparin Fondaparinux werden in der operativen Medizin als Mittel der ersten Wahl zur Thromboseprophylaxe eingesetzt. Durch die bessere Bioverfügbarkeit und die längeren Halbwertszeiten im Vergleich zu unfraktioniertem Heparin ist eine 1- bis 2-mal tägliche Gabe ausreichend, und es werden stabile Plasmaspiegel erreicht. Außerdem ist das Risiko, eine heparininduzierte Thrombozytopenie zu entwickeln, deutlich niedriger.

Entsprechend dem Thromboserisiko ist eine Unterscheidung in 3 Risikogruppen möglich (Tab. 31.15).

Der Gruppe mit einem niedrigen Risiko werden Patienten, die sich einem einfachen chirurgischen Eingriff unter 30 min unterziehen, mit einem Lebensalter unter 40 Jahren und ohne Thromboseanamnese oder einem erkennbaren thrombophilen Risikofaktor zugeordnet. In diesem Patientenkollektiv ist das Thromboserisiko niedrig, sodass eine medikamentöse Thromboseprophylaxe nicht zwingend erforderlich wird. Aufgrund der guten Verträglichkeit der niedermolekularen Heparine und der daraus resultierenden geringen Nebenwirkungsrate von niedermolekularen Heparinen sollte für viele Patienten mit diesem Risikoprofil eine medikamentöse Thromboseprophylaxe erwogen werden. Lediglich im Kindesalter ist das Thromboserisiko so niedrig, dass hier im Allgemeinen auf eine Thromboseprophylaxe verzichtet wird.

Der Gruppe mit mittlerem bis hohem Risiko werden Patienten mit folgenden Charakteristika zugerechnet:

- Lebensalter >40 Jahre ohne zusätzlichen thrombophilen Risikofaktor,
- Lebensalter <40 Jahre mit mindestens einem thrombophilen Risikofaktor (Begleiterkrankung, vorausgegangene Thrombose, maligne Grunderkrankung).

Für diese Patientengruppe gelten niedermolekulare Heparine in der für Patienten mit hohem Thromboserisiko zugelassenen Dosierung und das synthetische Heparin Fondaparinux in einer Dosierung von 2,5 mg einmal täglich als Mittel der Wahl.

Der Gruppe mit sehr hohem Thromboserisiko werden Patienten mit folgenden Charakteristika zugerechnet:

- endoprothetischer Hüft- oder Kniegelenkersatz oder andere große orthopädische Eingriffe,
- Lebensalter >40 Jahre mit mindestens einem thrombophilen Risikofaktor.

Fondaparinux und niedermolekulare Heparine in der höchsten zur Thromboseprophylaxe zugelassenen Dosierung gelten in dieser Indikation als Mittel der ersten Wahl. Bei Patienten mit sehr hohem Thromboserisiko kann in der postoperativen Phase die Antikoagulanziendosis auf eine halbtherapeutische Dosis erhöht werden. Außerdem konnte gezeigt werden, dass Patienten dieser Risikostufe von einer verlängerten 28 Tage dauernden und in der poststationären Phase weitergeführten medikamentösen Thromboseprophylaxe profitieren (Geerts 2005).

### Medikamentöse Prophylaxe in der konservativen Medizin

Auch bei stationär behandelten Patienten ohne operativen Eingriff ist das Thromboserisiko erhöht. In internistischen Patientenkollektiven werden Raten für das Auftreten einer tiefen Beinvenenthrombose von 10–26% angegeben (Pini u. Spyropoulos 2006). Die aus diesen Zahlen abzuleitende Annahme, dass diese Patientengruppe genau wie chirurgisch behandelte Patienten von einer medikamentösen Primärprophylaxe profitieren werden, konnte in verschiedenen klinischen Studien gezeigt werden (Samama et al. 1999; Leizorovicz et al. 2004; Cohen et al. 2006).

Genauso wie im operativen Patientengut ist für die Wahl der Antikoagulationsstärke eine Abwägung des Thromboserisikos mit dem Blutungsrisiko entscheidend.

**Tab. 31.15.** Risikoadaptierte medikamentöse Thromboseprophylaxe in der operativen Medizin. (Geerts et al. 2004)

| Risikogruppe | Thromboserisiko ohne Prophylaxe [%] | Lungenembolierisiko ohne Prophylaxe [%] | Medikamentöse Thromboseprophylaxe | Mittel der ersten Wahl |
|---|---|---|---|---|
| Niedriges Risiko | <1 | <0,01 | Fakultativ | LMWH |
| Mittleres bis hohes Risiko | 1–10 | <1 | Obligatorisch | LMWH oder Fondaparinux |
| Sehr hohes Risiko | >10 | >1 | Obligatorisch | LMWH oder Fondaparinux |

*LMWH* niedermolekulares Heparin

Beispielsweise gilt ein Unterschreiten von Thrombozytenzahlen unter 20.000/µl, z. B. im Rahmen einer Chemotherapie, als eine Kontraindikation gegen die Durchführung einer medikamentösen Thromboseprophylaxe.

**! Bei Thrombozytenzahlen zwischen 20.000 und 50.000/µl kann meist eine medikamentöse Thromboseprophylaxe in der niedrigsten zugelassenen Dosierung durchgeführt werden.**

Folgende Indikatoren zeigen ein hohes Thromboserisiko an und rechtfertigen eine Thromboseprophylaxe in der höchsten zur Thromboseprophylaxe zugelassenen Dosierung:
- ausgeprägte Herzinsuffizienz,
- Thromboseanamnese,
- maligne Erkrankung,
- Systemerkrankung mit einem besonders hohen Thromboserisiko, wie z. B. Lupus erythematodes.

Die übrigen internistischen Patienten werden mit einer Thromboseprophylaxe mit der für das mittlere bis hohe Risiko zugelassenen Dosierung behandelt.



### Medikamentöse Prophylaxe in der Intensivmedizin

Während der Phase der intensivmedizinischen Behandlung haben Patienten ein Thromboserisiko von 10–30% (Cade 1982; Kapoor et al. 1999). Auf der anderen Seite ist besonders bei diesem Patientenkollektiv das Blutungsrisiko durch die schwere Erkrankung und die häufig notwendigen interventionellen Maßnahmen sehr hoch.

**! Deswegen stellt für viele intensivmedizinisch behandelte Patienten das unfraktionierte Heparin aufgrund seiner guten Steuerbarkeit das Mittel der ersten Wahl dar.**

Ein Algorithmus zur Wahl der medikamentösen Thromboseprophylaxe ist in Abb. 31.6 zusammengefasst.

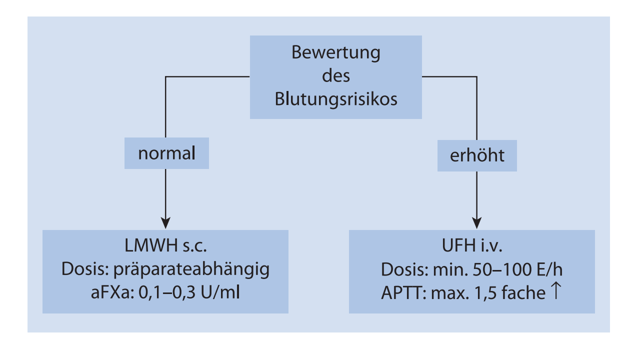



**Abb. 31.6.** Medikamentöse Thromboseprophylaxe in der Intensivmedizin. *LMWH* niedermolekulares Heparin; *aFXa* Anti-Faktor-Xa-Einheiten; *UFH* unfraktioniertes Heparin

### Medikamentöse Prophylaxe mit oralen Antikoagulanzien

Die Wirksamkeit von Vitamin-K-Antagonisten in der Indikation primäre Thromboseprophylaxe ist in Studien belegt (Pini u. Spyropoulos 2006). Trotzdem finden in Deutschland Vitamin-K-Antagonisten meist keine Anwendung in dieser Indikation. Gründe sind der langsame Wirkungseintritt, die Notwendigkeit der kontinuierlichen Therapieüberwachung und die langanhaltende Wirkung.

Neu entwickelte oral wirksame direkte Faktor-Xa- und Thrombininhibitoren sind im Vergleich zu Enoxaparin zur Thromboseprophylaxe nach Knie- und Hüftgelenkersatz getestet worden. Sie zeigen im Vergleich zu Enoxaparin eine zumindest gleich gute und zum Teil bessere Wirksamkeit. Wegen der oralen Darreichungsform ist damit zu rechnen, dass sie niedermolekulare Heparine zu einem Teil ersetzen werden (▶ Kap. 51.2).

## Literatur


Amarigiri SV, Lees TA (2000) Elastic compression stockings for prevention of deep vein thrombosis. Cochrane Database Syst Rev 1: CD001484

Andrews EJ Jr, Fleischner AC (2005) Sonography for deep venous thrombosis: current and future applications. Ultrasound Q 21: 213–225

Boccalon H, Elias A, Chalé JJ et al. (2000) Clinical outcome and cost of hospital vs home treatment of proximal deep vein thrombosis with a low-molecular-weight heparin: the Vascular Midi-Pyrennes study. Arch Intern Med 160: 1769–1773

Borly L, Wille-Jorgensen P, Rasmussen MS (2005) Systematic review of thromboprophylaxis in colorectal surgery – an update. Colorectal Dis 7: 122–127

Brandjes DP, Büller HR, Heijboer H et al. (1997) Randomised trial of the effect of compression stockings in patients with symptomatic proximal-vein thrombosis. Lancet 349: 759–762

Cade JF (1982) High risk of the critically ill for venous thromboembolism. Crit Care Med 10: 448–450

Cham MD, Yankelevitz DF, Shaham D et al. (2000) Deep venous thrombosis: detection by using indirect CT venography. The Pulmonary angiography – indirect CT venography cooperative group. Radiology 216: 744–751

Cohen AT, Davidson BL, Gallus AS et al. (2006) Efficacy and saftey of fondaparinux for the prevention of venous thromboembolism in older acute medical patients: randomised placebo controlled trial. Br Med J 332: 325–329

Crane C (1951) The use of heparin-gelatin-dextrose in venous thrombosis and pulmonary embolism. N Engl J Med 245: 926–929

Extended low-intensity anticoagulation for thrombo-embolism investigators (2003) Comparison of low-intensity warfarin therapy with conventional-intensity warfarin therapy for long-term prevention of recurrent venous thromboembolism. N Engl J Med 349: 631–639

Geerts W, Ray JG, Colwell CW, Bergqvist D, Pineo GF, Lassen MR, Heit JA (2005) Prevention of venous thromboembolism. Chest 128: 3775–6

Geerts WH, Pineo GF, Heit JA et al. (2004) Prevention of venous thromboembolism: the seventh ACCP conference on antithrombotic and thrombolytic therapy. Chest 126: 338S–400S

Gould MK, Dembitzer AD, Sanders GD et al. (1999) Low-molecular-weight heparins compared with unfractionated heparin for treatment of acute deep venous thrombosis. A cost-effectiveness analysis. Ann Intern Med 130: 789–799

Hann CL, Streiff MB (2005) The role of vena caval filters in the management of venous thromboembolism. Blood Rev 19: 179–202
Hansson PO, Sörbo J, Eriksson H (2000) Recurrent venous thromboembolism after deep vein thrombosis: incidence, and risk factors. Arch Intern Med 160: 769–774
Heit JA (2005) Venous thromboembolism: disease burden, outcomes and risk factors. J Thromb Haemost 3: 1611–1617
Heit JA, Mohr DN, Silverstein MD et al. (2000) Predictors of recurrence after deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a population-based cohort study. Arch Intern Med 160: 761–768
Heit JA, Silverstein MD, Mohr DN, Petterson TM, O'Fallon WM, Melton LJ 3rd (1999) Predictors of survival after deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a population-based, cohort study. Arch Intern Med 159: 445–53
Kapoor M, Kupfer YY, Tessler S (1999) Subcutaneous heparin prophylaxis significantly reduces the incidence of venous thromboembolic events in the critically ill (abstract). Crit Care Med 27 (suppl.): A69
Kearon C, Ginsberg JS, Kovacs MJ et al. (2003) Comparison of low-intensity warfarin therapy with conventional-intensity warfarin therapy for long-term prevention of recurrent venous thromboembolism. N Engl J Med 349: 631–639
Kearon C, Julian JA, Newman TE et al. (1998) Noninvasive diagnosis of deep venous thrombosis. McMaster Diagnostic Imaging Practice Guidelines Initiative. Ann Intern Med 128: 663–677
Leizorovicz A, Cohen AT, Turpie AG et al. (2004) Randomized, placebo-controlled trial of dalteparin for the prevention of venous thromboembolism in acutely ill medical patients. Circulation 110: 874–879
Leitlinien der deutschen Gesellschaft für Phlebologie. Diagnostik und Therapie der tiefen Bein- und Beckenvenenthrombose. AWMF online. www.uni-duesseldorf.de/WWW/AWMF/11/037-002.htm
Linkins L, Choi PT, Douketis JD (2003) Clinical impact of bleeding in patients taking oral anticoagulant therapy for venous thromboembolism: a meta-analysis. Ann Intern Med 139: 893–900
Locker T, Goodacre S, Sampson F et al. (2006) Metaanalysis of plethysmography and rheography in the diagnosis of deep vein thrombosis. Emerg Med J 23: 630–635
Michiels JJ, Gadisseur A, van der Planken M et al. (2006) Different accuracies of rapid enzyme-linked immunosorbent, turbidimetric, and agglutination d-dimer assays for thrombosis exclusion: impact on diagnostic work-up of outpatients with suspected deep vein thrombosis and pulmonary embolism. Seminars in thrombosis and haemostasis 32: 678–693
Orbell JH, Smith A, Burnand KG et al. (2008) Imaging of deep vein thrombosis. Brit J Surg 95: 137–146
Palareti G, Cosmi B, Legnani C et al.; PROLONG Investigators (2006) D-dimer testing to determine the duration of anticoagulation therapy. N Engl J Med. 355:1780–9
Palareti G, Legnani C, Cosmi B, Valdré L, Lunghi B, Bernardi F, Coccheri S (2003) Predictive value of D-dimer test for recurrent venous thromboembolism after anticoagulation withdrawal in subjects with a previous idiopathic event and in carriers of congenital thrombophilia. Circulation 108:313–8
Pini M, Spyropoulos AC (2006) Prevention of venous thromboembolism. Seminars in thrombosis and hemostasis 32: 755–766
Prandoni P, Lensing AW, Prins MH et al. (2004) Below-knee elastic compression stockings to prevent the post-thrombotic syndrome : a randomized, controlled trial. Ann Intern Med 141: 249–256
Prevent investigators (2003) Long-term, low-intensity warfarin therapy for the prevention of recurrent venous thromboembolism. N Engl J Med 348: 1425–1434
Qaseem A, Snow V, Barry P et al. (2007) Current diagnosis of venous thromboembolism in primary care: a clinical practice guideline from the American Academy of Family Physicians and the American College of Physicians. Ann Intern Med 146(6): 454–8
Razavi MK, Wong H, Kee ST et al. (2002) Initial clinical results of tenecteplase (TNK) in catheter-directed thrombolytic therapy. J Endovasc Ther 9: 593–598
Rodger MA, Gagné-Rodger C, Howley HE et al. (2003) The outpatient treatment of deep vein thrombosis delivers cost savings to patients and their families, compared to inpatient therapy. Thromb Res 112: 13–18
Samama MM, Cohen AT, Darmon JY et al. (1999) A comparison of enoxaparin with placebo for the prevention of venous thromboembolism in acutely ill medical patients. N Engl J Med 341: 793–800
Snow V, Qaseem A, Barry P et al. (2007) Management of venous thromboembolism: a clinical practice guideline from the American College of Physicians and the American Academy of Family Physicians. Ann Intern Med 146: 204–210
Sugimoto K, Hofmann LV, Razavi MK et al. (2003) The safety, efficacy, and pharmacoeconomics of low-dose alteplase compared with urokinase for catheter-directed thrombolysis of arterial and venous occlusions. J Vasc Surg 37: 512–517
Turpie AG, Hirsh J, Gent M et al. (1989) Prevention of deep vein thrombosis in potential neurosurgical patients: a randomised trial comparing graduated compression stockings alone or graduated compression stockings plus intermittent pneumatic compression with control. Arch Intern Med 149: 679–681
Wells PS et al. (1997) Value of assessment of pretest probability of deep-vein thrombosis in clinical management. Lancet 350: 1795 (DI)
Wells PS, Hirsh J, Anderson DR et al. (1995) Accuracy of clinical assessment of deep-vein thrombosis. Lancet 345: 1326–1330
White RH, Zhou H, Kim J et al. (2000) A population-based study of the effectiveness of inferior vena cava filter use among patients with venous thromboembolism. Arch Intern Med 160: 2033–2041

## 31.3 Thrombosen an seltenen Lokalisationen

*E. Stolz*



Die Venenthrombosen an ungewöhnlichen Lokalisationen (Sinus- und Hirnvenen, Mesenterial- und Lebervenen, Pfortader, Armvenen) haben gemeinsam, dass ein Drittel oder mehr aller Patienten eine erworbene oder angeborene thrombophile Gerinnungsstörung aufweisen, sodass ein entsprechendes Screening obligat ist.



### 31.3.1 Sinus- und Hirnvenenthrombosen

Lange galten Sinus- und Hirnvenenthrombosen (SHVT) in Ermangelung sicherer epidemiologischer Daten zu Unrecht als selten. Mit Verbreitung nicht invasiver Untersuchungsmethoden wie Magnetresonanztomographie (MRT) mit MR-Angiographie (MRA) oder computertomographischer Angiographie (CTA) wurde klar, dass das Krankheitsbild wesentlich häufiger ist als vermutet. Bei Patienten mit Kopfschmerzen und neurologischen Ausfällen oder zunehmendem Kopfschmerz ohne entsprechende Vorgeschichte ist mit einer Rate von ca. 10% zu rechnen (Kosinski et al. 2004).

Die Erkrankung weist Altersgipfel in der Säuglingsperiode sowie in der 3. bis 4. Lebensdekade auf (DeVeber et al. 2001, Biousse et al. 2003), kann aber prinzipiell in jedem Alter auftreten. Im Erwachsenenalter sind Frauen häufiger betroffen als Männer.

#### Ätiologie

Üblicherweise unterscheidet man blande SHVT von infektiösen Formen. Während noch bis in die 1950er-Jahre hinein Infektionen häufigster Risikofaktor der SHVT waren (Kalbag u. Woolf 1967), sind diese mittlerweile weitgehend in den Hintergrund gerückt und machen weniger als 5% aller Fälle aus. Regionale Infekte (HNO-Gebiet, Orbita, Otitis media, Follikulitiden) können SHVT durch Keimverschleppung oder Durchwanderung auslösen. Als Komplikation einer Pneumokokkenmeningitis können Sinusthrombosen in etwa 10% der Fälle auftreten (Kastenbauer u. Pfister 2003). Auch im Zusammenhang mit anderen Infektionen wurden SHVT beschrieben (Tab. 31.16), in einigen Fällen erscheint aber eine kausale Verbindung eher fraglich.

Häufigster Risikofaktor für eine blande SHVT ist die Einnahme oraler Kontrazeptiva, die das Risiko etwa um das 5-fache erhöhen; dieser Zusammenhang ist für das Krankheitsbild in eigenständigen Studien gesichert (Dentali et al. 2006). Hereditäre Thrombophilien und das Lupusantikoagulans sind mit etwa 30% zweithäufigster Risikofaktor (▶ Kap. 31.1.1 und 31.1.2). Entsprechend muss bei gesicherter SHVT ein systematisches Screening auf eine thrombophile Gerinnungsstörung erfolgen.

In einer Metaanalyse der verfügbaren Daten war das Risiko für eine SHVT bei Vorliegen folgender Risikofaktoren wiefolgt erhöht (Dentali et al. 2006):

- heterozygote Faktor-V-Leiden-Mutation: 3,4-fach,
- heterozygoter Prothrombin-G20210A-Polymorphismus: 9,3-fach,
- Protein-S-Mangel: 12,5-fach,
- Protein-C-Mangel: 11,1-fach,
- Hyperhomocysteinämie: 4,1-fach.

Die Lipoprotein-(a)-Erhöhung ist als Risikofaktor bei Kindern untersucht (Nowak-Göttl et al. 1999). Ein zumindest statistischer Zusammenhang besteht für schwere Anämien und SHVT, wobei der pathogenetische Zusammenhang unklar ist (Stolz et al. 2007). Die Bedeutung anderer thrombophiler Faktoren lässt sich im Wesentlichen nur aus dem Vergleich mit ähnlichen Krankheitsbildern erschließen (▶ Kap. 31.2), da sie für die SHVT entweder nicht oder nur schlecht untersucht sind.

Bei Frauen machen die partalen und postpartalen Thrombosen etwa 20% der Fälle aus (▶ Kap. 31.1.4). Register – allerdings in der Mehrzahl aus der Vor-MRT-Ära – geben die Häufigkeit mit etwa 10 Fällen pro 100.000 Entbindungen an. Neoplastische und insbesondere paraneoplastische SHVT machen mit etwa 7% die nächst häufigste Ursache aus (Stolz et al. 2005).

Über ein generelles Tumorscreening bei älteren Patienten besteht kein Konsens. Darüber hinaus sind SHVT mit zahlreichen anderen Risikofaktoren assoziiert. Tab. 31.16 fasst die Faktoren zusammen, für die in der Literatur ein Zusammenhang bei mindestens 3 Fällen berichtet wurde.

#### Klinik

Die Symptome der SHVT sind relativ unspezifisch (Tab. 31.17). Die Kombination aus Kopfschmerz mit fokalen neurologischen Ausfällen oder Krampfanfällen sollte immer an eine SHVT denken lassen. Die Erkrankung kann

**Tab. 31.16.** Ursachen der Sinus- und Hirnvenenthrombose

| Thrombophilie (ca. 30%) | – Faktor-V-Leiden-Mutation<br>– Prothrombinpolymorphismus<br>– Protein-C-Mangel<br>– Protein-S-Mangel<br>– Antithrombinmangel<br>– Lupusantikoagulans<br>– Plasminogenmangel<br>– Homocysteinurie<br>– Hyperhomocysteinämie<br>– Lp-a-Erhöhung<br>– HIT Typ 2<br>– MTHFRT-Polymorphismus<br>– erhöhte Faktor-VIII-Konzentration |
|---|---|
| Partal- und Postpartalphase (ca. 20%) | |
| Medikamente | – Orale Antikonzeptiva (50–80%)<br>– L-Asparaginase<br>– Kortikosteroide<br>– Erythropoetin<br>– Androgene<br>– Tamoxifen |
| Neoplastisch/paraneoplastisch (5–10%) | |
| Hämatologische Erkrankungen (<5%) | – Lymphome<br>– Leukämien<br>– schwere Anämie<br>– Polycythaemia vera<br>– essenzielle Thrombozythämie<br>– Sichelzellanämie<br>– paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie |
| Vaskulitiden (<5%) | – Behçet-Krankheit<br>– Colitis ulcerosa<br>– systemischer Lupus erythematodes<br>– Wegener-Granulomatose<br>– Sjögren-Syndrom<br>– Thrombangiitis obliterans |
| Infektion (<5%) | – Lokal: Otitis, Sinusitis, Tonsillitis, Folliculitis etc.<br>– regional: Meningitis, intrakranielles Empyem, intrakranieller Abszess, Aspergillose, Mukormykose<br>– generalisiert: Sepsis, Endokarditis, Typhus, HIV, CMV, HSV, Malaria, Trichinose |
| Sonstiges (<5%) | – Neurochirurgische Eingriffe<br>– »neck dissection«<br>– ZVK-Anlage V. jugularis interna<br>– leptomeningeale Fistel<br>– Sarkoidose<br>– nephrotisches Syndrom<br>– proteinverlierende Enteropathie<br>– Thyreotoxikose<br>– saisonale Häufung<br>– Lumbalpunktion<br>– Exsikose |
| Trauma (<1%) | |

*CMV* Zytomegalievirus; *HSV* Herpes-simplex-Virus; *HIV* Humaner Immundefizitvirus; MTHFRT thermolabile Methyltetrahydrofolatreduktase

**Tab. 31.17.** Symptome der Sinus- und Hirnvenenthrombose

| Symptom | Häufigkeit [%] |
|---|---|
| Kopfschmerzen | 75–90 |
| Hemi-/Tetraparese | 40–70 |
| Krampfanfälle | 30–50 |
| Bewusstseinsstörung | 20–40 |
| Stauungspapille | 20–40 |
| Pseudotumor cerebri | 10–30 |
| Aphasie | 20–30 |
| Sehstörung | 5–15 |
| Sensible Defizite | 2–5 |
| Andere kortikale Symptome | Ca. 5 |
| Isolierte Hirnnervenausfälle | <5 |



sich aber auch oligosymptomatisch, z. B. nur mit Kopfschmerzen, äußern. Diese können in bis zu 15% der Fälle schlagartig auftreten und zunächst den Verdacht auf eine Subarachnoidalblutung lenken (De Bruijn et al. 1996). Andererseits entwickeln sich die Symptome bei mehr als der Hälfte der Patienten schleichend mit einer Anamnese, die über eine Woche hinaus reicht.

Die Präsentation mit Sehstörungen, beidseitigen Stauungspapillen und Kopfschmerzen wird als (sekundärer) Pseudotumor cerebri bezeichnet und liegt je nach Studie bei 10–30% der Fälle vor. Isolierte Hirnnervenausfälle können im Rahmen einer Thrombose des Sinus cavernosus (N. III, IV, V, VI und in der Regel Exophthalmus), des Sinus transversus oder sigmoideus (N. VII–X) auftreten (Kuehnen et al. 1998).

**! Die häufigsten Symptome einer Sinus- und Hirnvenenthrombose sind unspezifisch. Ein großer Teil der Erkrankungen verläuft oligosymptomatisch.**

## Diagnostik

Mittlerweile hat sich die MRT mit venöser MRA als diagnostischer Goldstandard etabliert, weil mit ihr der positive Nachweis eines venösen Thrombus gelingt. Dies ist in der Praxis deshalb von besonderer Bedeutung, da der Sinus transversus in mehr als 50% der Fälle asymmetrisch mit einer Rechtsdominanz und in etwa 5% aplastisch angelegt, aber in etwa 70% von Thrombosen betroffen ist. Entsprechend zeigen andere Verfahren nur einen Füllungsdefekt, unter Umständen ohne zwischen Thrombose und Hypo- bzw. Aplasie unterscheiden zu können. Auch das Alter der Thrombose kann anhand des Signalverhaltens des Thrombus, das von der Verstoffwechslung des Hämoglobins im sich organisierenden Gerinnsel abhängig ist, auf den verschiedenen Wichtungen (T1, T2, Gradientenecho, T2*) abgeschätzt werden (Abb. 31.7).

Die venöse CTA bietet Vorteile hinsichtlich der kurzen Aquisitionszeit und der Darstellbarkeit kortikaler Venen. Dagegen bleibt die zerebrale digitale Subtraktionsangiographie weitgehend der Klärung unklarer Befunde und der Diagnose isolierter kortikaler Venenthrombosen vorbehalten. Die konventionelle Computertomographie kann zwar bereits eine spontane hyperdense Darstellung der betroffenen Sinus oder mit Kontrastmittel eine Flussaussparung besonders im Bereich des Sinus sagittalis superior (»empty delta« oder »triangular sign«) zeigen (Abb. 31.8), ihre Sensitivität liegt aber unter 30%, sodass sie zum Ausschluss einer SHVT nicht ausreicht (Renowden 2004). Auch das Fehlen eines Stauungsinfarkts spricht nicht gegen die Diagnose, da er nur in etwa 50% der Fälle auftritt. Die Mehrzahl der Stauungsinfarkte zeigt eine Diapedeseblutung.

D-Dimere sind häufig bei akuten HVST erhöht, ein negativer Befund schließt die Erkrankung nicht aus. Auch die Liquordiagnostik ist in der Regel nicht wegweisend und kann neben einem erhöhten Liquoröffnungsdruck eine leichte Pleozytose (i.d.R. <50 Zellen/µl), eine Blut-Hirn-Schrankenstörung oder ein erhöhtes Ferritin zeigen. Neben einem Thrombophiliescreening sollte routinemäßig nach einer Vaskulitis gesucht werden, auch wenn diese eher selten Ursache einer SHVT ist.

## Therapie und Prognose

Die initiale Therapie besteht in fast allen Fällen in einer Antikoagulation mit Heparin, auch – darauf sei hier besonders hingewiesen – bei Vorliegen einer Stauungsblutung oder den eher seltenen Komplikationen einer venösen Subarachnoidalblutung oder eines venösen Subduralhämatoms. Für die APTT-wirksame Behandlung mit unfraktioniertem Heparin (APTT 2- bis 2,5-fach verlängert) sprechen zahlreiche Fallserien und eine prospektive, randomisierte Studie mit allerdings nur geringer Fallzahl (Einhäupl et al. 1991). Gewichtsadaptiertes niedermolekulares Heparin (Nadroparin) führte zwar in einer holländischen Studie (de Bruijn et al. 1999) zu einem Trend eines besseren Langzeitbefunds gegenüber Placebo, jedoch ohne Signifikanz, sodass die Behandlung mit unfraktioniertem Heparin in der Leitlinie der neurologischen Fachgesellschaft empfohlen wird.

**Cave**

Häufigster Fehler in der Behandlung in der Akutphase der SHVT mit Progredienz der Stauungsblutung und des Hirnödems ist die zu zögerliche und/oder zu niedrig dosierte Heparinisierung.

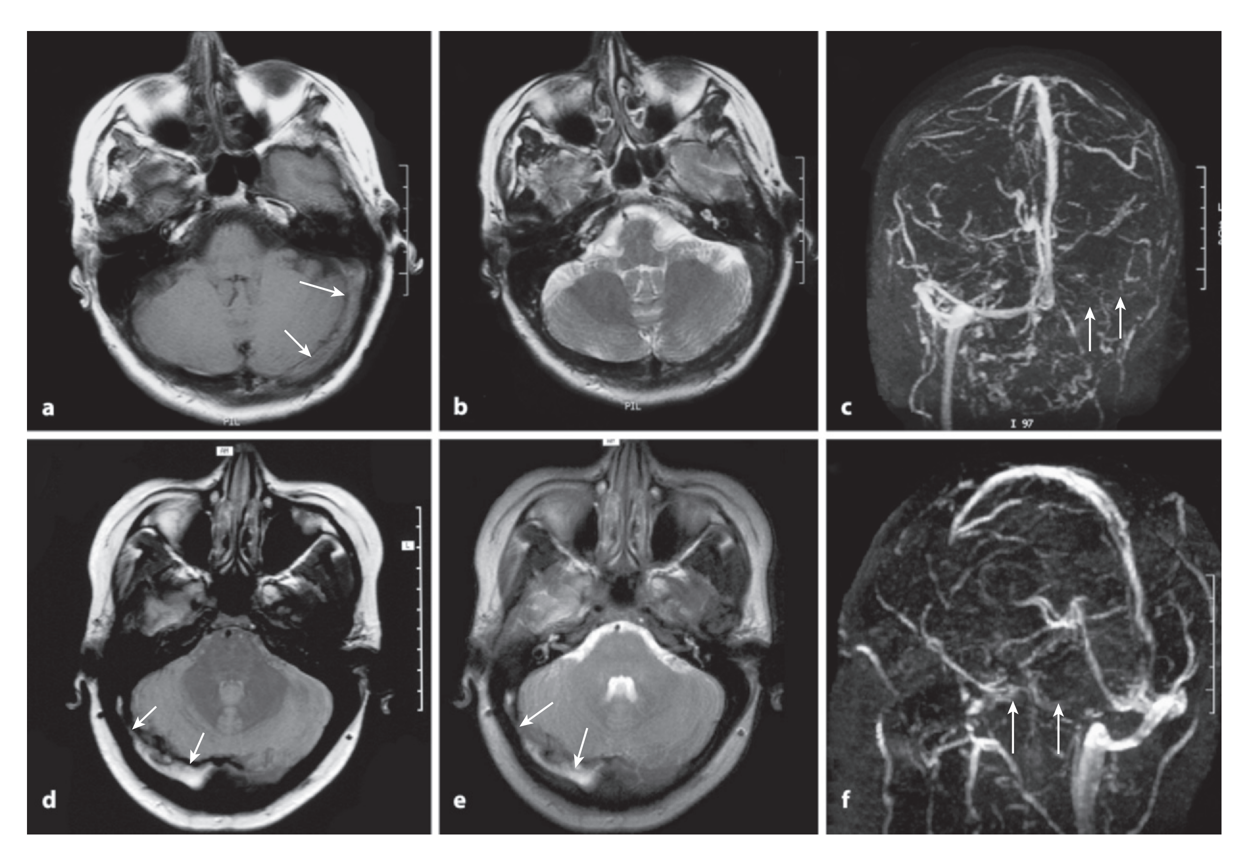



**Abb. 31.7a–f.** Thrombussignalcharakteristik in der Magnetresonanztomographie. **a–c** Frische (<5 Tage alte) Thrombose des Sinus transversus links: **a** mit Thrombussignal in der T1-Wichtung (*Pfeile*), **b** mit fehlendem Signal in der T2-Wichtung, **c** mit fehlendem Flusssignal in der MR-Angiographie (*Pfeile*), **d–f** älte Thrombose (>7 Tage und <1 Monat) des rechten Sinus transversus, **d** mit Thrombussignal in der T1-Wichtung (*Pfeile*), **e** mit Thrombussignal in der T2-Wichtung (*Pfeile*), **f** fehlendes Flusssignal in der MR-Angiographie (*Pfeile*)

Der Stellenwert der lokalen, transvenösen Thrombolyse kann derzeit noch nicht sicher eingeschätzt werden, weil randomisierte Studien fehlen. Die bisher berichteten Fallserien zeigen aber, dass die lokale Thrombolyse zumindest ausreichend sicher ist (Canhão et al. 2003). Unklar ist hier weiterhin, welche Patientengruppe am meisten profitiert. In den meisten, aber nicht in allen Zentren, wird die Thrombolyse auf Patienten mit schweren neurologischen Ausfällen oder Bewusstseinstörung beschränkt. Eine lokal arterielle Lyse ist nach unseren eigenen Erfahrungen nicht sinnvoll, da das Thrombolytikum über Kollateralen abläuft und den Thrombus nicht erreicht (Stolz et al. 2005). Die operative Thrombektomie wurde bisher nur in Einzelfällen mit wechselndem Erfolg berichtet. Die häufigste Todesursache in der Akutphase stellt das therapierefraktäre Hirnödem dar. Ist es weitgehend lokalisiert, kann eine dekompressive Kraniotomie lebensrettend sein, bei generalisiertem Hirnödem ist die beidseitige Kraniotomie (Korbhenkeltrepanation) als Ultima ratio anzusehen. Steroide sollten zur Hirndrucktherapie nicht eingesetzt werden, weil sie die Prognose verschlechtern (Canhão et al. 2008).

Infektiöse Sinusthrombosen erhalten zusätzlich eine angepasste Antibiose, außerdem ist immer die Möglichkeit einer operativen Sanierung eines Fokus zu klären.

Einigkeit herrscht darüber, dass Patienten nach der Akutphase eine orale Antikoagulation erhalten sollten. Kontrollierte Studien gibt es hierzu nicht. Meist wird ein Zeitraum von mindestens 6–12 Monaten empfohlen, der entsprechend der Vorgeschichte und des Gerinnungsbefunds modifiziert werden muss. Das in Abb. 31.9 dargestellte Schema stellt hierzu einen Vorschlag dar und entspricht der Vorgehensweise in unserer Klinik.

**Prognose.** Im Allgemeinen weisen SHVT eine sehr gute Prognose auf. Mehr als 70% aller Patienten haben nach 6 Monaten keine oder nur eine geringe Behinderung (Dentali et al. 2006). Etwa 20% der Patienten erleidet im Verlauf eine extrazerebrale Venenthrombose, Rezidive einer SHVT sind mit 1–2% selten.

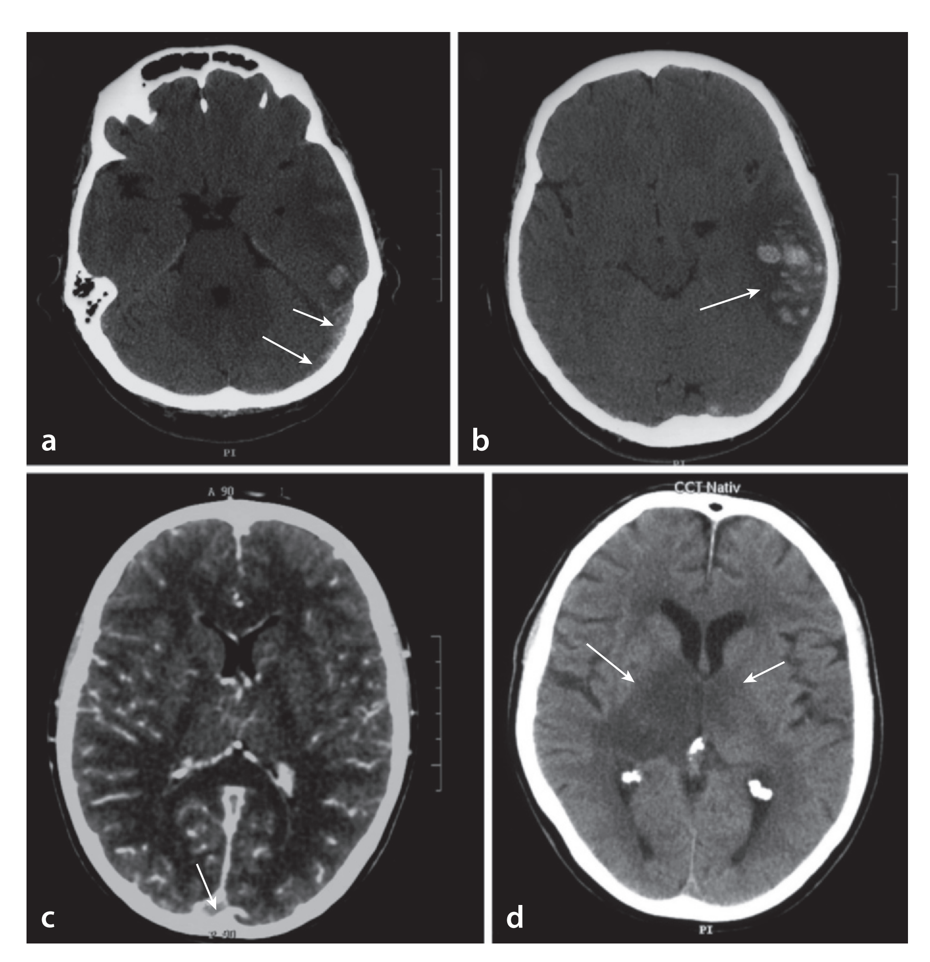



**Abb. 31.8a–d.** Sinus- und Hirnvenenthrombosen in der konventionellen Computertomographie. **a** Spontane hyperdense Darstellung eines Thrombus im linken Sinus transversus (*Pfeile*), **b** gleicher Patient, venöse Stauungsblutung (*Pfeil*), **c** »empty delta sign« (Kontrastmittelaussparung) im Sinus sagittalis superior im Kontrastmittel-Computertomogramm (*Pfeil*), **d** bithalamisches Ödem als pathognomonisches Zeichen einer inneren Hirnvenenthrombose (*Pfeile*)



### 31.3.2 Mesenterialvenen-, Pfortader- und Lebervenenthrombosen

Die Mesenterialvenenthrombose macht ca. 5–15% der akuten Darmischämien aus. Die Mortalität liegt zwischen 50 und 60% (Eckstein 2003). Leitsymptom ist der abdominelle Schmerz, der oft bei Klinikaufnahme bereits seit einigen Tagen bestanden hat. Bei mehr als der Hälfte der Patienten bestehen zusätzlich Übelkeit und Erbrechen. Blutige Diarrhoen, Hämatemesis und Hämatochezie sprechen für einen bereits erfolgten Darminfarkt. Bei der klinischen Untersuchung besteht ein aufgetriebenes und schmerzhaftes Abdomen, etwa die Hälfte der Patienten hat peritonitische Zeichen und Fieber (Lock u. Schölmerich 2004).

Bei subakuten Thrombosen können über Wochen abdominelle Schmerzen bestehen, ohne dass es zu einem Darminfarkt kommt. Chronische Thrombosen können völlig asymptomatisch bleiben. Ein erhöhtes Laktat im Serum findet sich zwar häufig, negative Befunde schließen die Erkrankung aber nicht aus. Bei akuter mesenterialer Ischämie können sonographisch Zeichen einer massiven intestinalen Nekrose gefunden werden. Eine thrombosierte Mesenterialvene kann in der Farbduplexsonographie dargestellt werden; die Sensitivität der Methode reicht aber nicht aus.

Ähnlich wie für den Ultraschall gilt, dass Röntgenaufnahmen in erster Linie dem Ausschluss anderer Ursachen dienen. Bei der Mesenterialvenenthrombose gilt die Kontrast-CT als zuverlässig und als diagnostische Methode der Wahl, für arterielle Darmischämien liegt zwar die Spezifität bei 100%, die Sensitivität aber nur bei 48%. Deshalb hat das Kontrast-CT bisher keinen Eingang in die Leitlinien zur Klärung der arteriellen Darmischämie gefunden (Brandt u. Boley 2000).

Bei Patienten ohne Peritonitis empfehlen die Leitlinien in diesem Fall als zuverlässigste diagnostische Methode die selektive mesenteriale Angiographie, bei peritonitischen

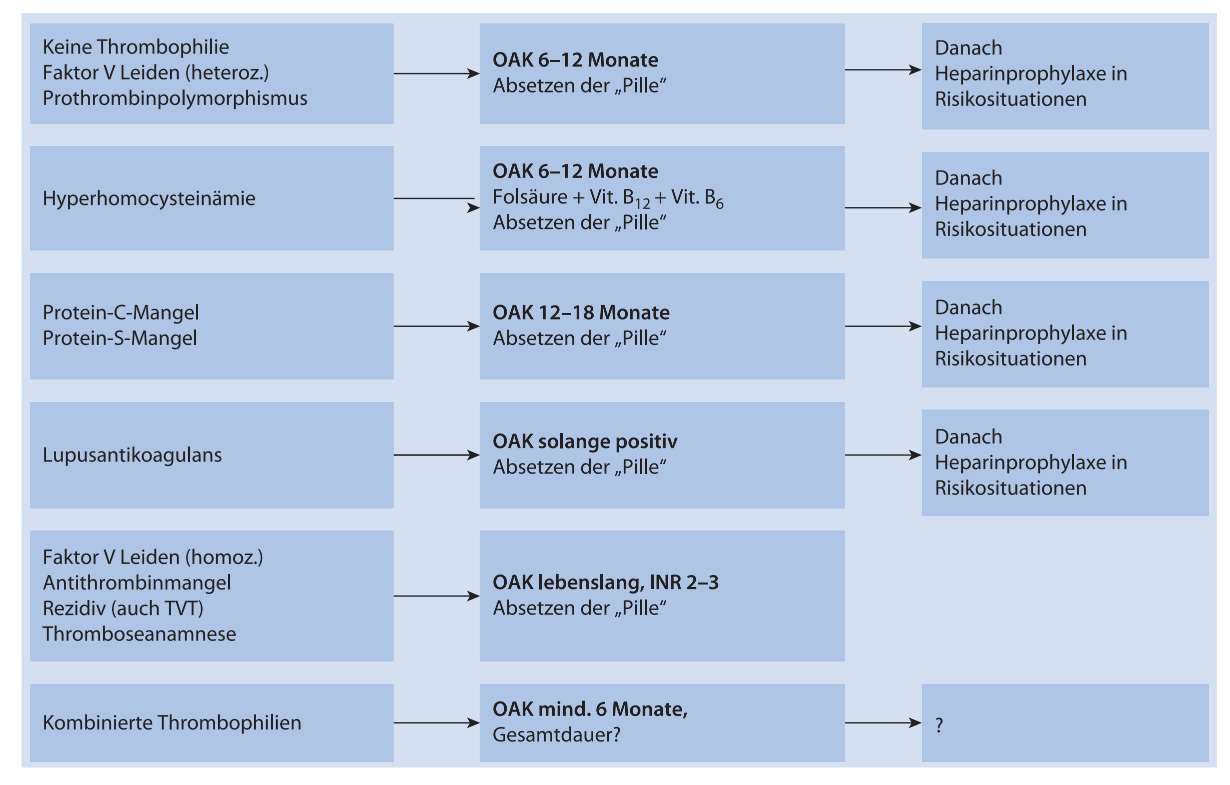



**Abb. 31.9.** Sekundärprophylaxe bei Sinus- und Hirnvenenthrombosen. *OAK* orale Antikoagulation

Zeichen die Laparotomie. Erhöhte D-Dimer-Werte können den Verdacht auf das Vorliegen eines thrombotischen Geschehens untermauern.

Die Ursachen der Mesenterialvenenthrombose sind vielfältig. Hierzu zählen Hormonpräparate, myeloproliferative Erkrankungen, intraabdominelle Tumoren, entzündliche abdominelle Erkrankungen, Schwangerschaft, portale Hypertension, abdominelles Trauma und in etwa 30–40% der Fälle thrombophile Störungen, sodass ein entsprechendes Screening obligat ist. Bei symptomatischen Patienten mit Peritonitis sollte eine Laparotomie mit Thrombektomie und Resektion infarzierter Darmabschnitte erfolgen, gefolgt von einer Antikoagulation. Bei fehlenden peritonitischen Zeichen kann eine primäre Antikoagulation mit klinischer Überwachung ausreichen (Lock u. Schölmerich 2004). Die lokale Thrombolyse wird noch wegen des Risikos eines hämorrhagischen Darminfarkts kontrovers beurteilt. Zur Dauer der Rezidivprophylaxe mit Antikoagulation gibt es keine kontrollierten Studien. Es werden Zeiträume von 6 Monaten bis lebenslang empfohlen. Dabei wird die Dauer an die Schwere des Ereignisses, an die auslösende Ursache und an das Ergebnis des Thrombophiliescreenings angepasst.

Pfortaderthrombosen können sich nach proximal in die hepatischen Pfortaderäste oder nach distal in die Mesenterialvenen oder die V. lienalis ausdehnen. Leberinfarkte treten nicht auf, da im akuten Stadium der Fluss in der A. hepatica kompensatorisch gesteigert wird, in der chronischen Phase eine Kompensation über Kollateralen eintritt.

Häufigste Ursache sind die Leberzirrhose und Leberzellkarzinome mit entsprechenden klinischen Zeichen. Pfortaderthrombosen ohne Zirrhose manifestieren sich häufig durch Ösophagusvarizenblutungen, Panzytopenie durch Hypersplenismus oder Cholestase. Häufige Ursachen in dieser Gruppe sind Traumata (5–20%), intraabdominelle Enzündungen (5–40%), myeloproliferative Erkrankungen (>30%) und thrombophile Gerinnungsstörungen (>30%; Denninger et al. 2000; Bayraktar et al. 2006). Insbesondere bei Vorliegen einer Leberzirrhose treten zu den hereditären Störungen erworbene Mangelzustände von Protein C und S sowie Antithrombin hinzu. Zur Frage der Antikoagulation liegen keine kontrollierten Studien vor. Die Indikation wird unter Abschätzung des Blutungsrisikos (Varizen!) individuell gestellt.

Lebervenenthrombosen mit oder ohne Beteiligung der V. cava (Budd-Chiari-Syndrom) stellen in der Regel ein akutes Krankheitsbild mit abdominellen Schmerzen, Leberschwellung und Aszites dar. Die Mortalität liegt zwischen 60 und 70%. Chronische oder blande Verläufe kommen vor, sind aber seltener (Denninger et al. 2000). Ursachen stellen in einem hohen Prozentsatz thrombophile Gerinnungsstörungen (>30%, Protein-C-Mangel allein

10–20%) und latente oder manifeste myeloproliferative Erkrankungen dar. Daneben spielen die nächtliche paroxysmale Hämoglobinurie, die Beçhet-Krankheit, orale Antikonzeptiva, Traumata und abdominelle Infekte eine Rolle (Bayraktar u. Harmanci 2006).

Bei chronischen stabilen Verläufen ist eine Antikoagulation unter Einschätzung des individuellen Blutungsrisikos möglich. Beim progredienten Leberversagen kommen in erster Linie vaskuläre Interventionen (Angioplastie, transjugulärer intrahepatischer portosystemischer Shunt) und operative Verfahren infrage, bei ausgewählten Patienten auch eine Lebertransplantation.

### 31.3.3 Armvenenthrombosen (Paget-von-Schrötter-Syndrom)

Venenthrombosen des Arms machen weniger als 2% aller Fälle mit primärer venöser Thrombose aus. Das Leitsymptom besteht in einer nicht entzündlichen Schwellung des Arms. Hauptkomplikationen bestehen in einer Kompression des neurovaskulären Bündels (<10%) und Lungenembolien (5–10%) (Brandao et al. 2006). Die Diagnostik erfolgt meist nicht invasiv mit der Duplexsonographie oder der Kernspinangiographie.

Prädisponierende Faktoren sind repetitive, stereotype Bewegungen des Arms, das »thoracic outlet syndrome«, Halsrippen und Tumoren. Auch im Zusammenhang mit zentralvenösen Kathetern kann es zu einer Armvenenthrombose kommen. Die Rate an thrombophilen Störungen liegt bei über 30% (Faktor-V-Leiden-Mutation, Prothrombinpolymorphismus, Lupusantikoagulans als häufigste Befunde), sodass ein Screening obligat ist.



### Literatur


Bayraktar Y, Harmanci O (2006) Etiology and consequences of thrombosis in abdominal vessels. World J Gastroenterol 12: 1165–1174

Biousse V, Tong F, Newman NJ (2003) Cerebral venous thrombosis. Curr Treatm Options Cardiovasc Med 5: 181–192

Brandao LR, Williams S, Kahr WHA, Ryan C, Temple M, Chan AKC (2006) Exercise-induced deep vein thrombosis of the upper extremity. 1. Literature review. Acta Haematol 115: 214–220

Brandt LJ, Boley SJ (2000) AGA technical review on intestinal ischemia. American Gastrointestinal Association. Gastroenterology 118: 954–968

Canhão P, Cortesão A, Cabral M, Ferro JM, Stam J, Bousser MG, Barinagarrementeria F, for the ISCVT Investigators (2008) Are steroids useful to treat cerebral venous thrombosis? Stroke 39: 105–110

Canhão P, Falcão F, Ferro JM (2003) Thrombolytics for cerebral sinus thrombosis. A systematic review. Cerebrovasc Dis 15: 159–166

Denninger MH, Chait Y, Casadevall N, Hillaire S, Guillin MC, Bezeaud A, Erlinger S, Briere J, Valla D (2000) Cause of portal or hepatic venous thrombosis in adults: the role of multiple concurrent factors. Hepatology 31: 587–591

Dentali F, Crowther M, Ageno W (2006) Thrombophilic abnormalities, oral contraceptives, and risk of cerebral vein thrombosis: a meta-analysis. Blood 107: 2766–2773

De Bruijn SFTM, Stam J, for the Cerebral Venous Sinus Thrombosis Study Group (1999) Randomized, placebo-controlled trial of anticoagulant treatment with low-molecular-weight heparin for cerebral sinus thrombosis. Stroke 30: 484–488

De Bruijn SFTM, Stam J, Kapelle LJ, for the CVST Study Group (1996) Thunderclap headache as first symptom of cerebral venous sinus thrombosis. Lancet 348: 1623–1625

DeVeber G, Andrew M, Adams C et al. (2001) for the Canadian Pediatric Ischemic Stroke Study Group () Cerebral sinovenous thrombosis in children. N Engl J Med 345: 417–423

Eckstein HH (2003) Die akute mesenteriale Ischämie. Chirurg 74: 419–431

Einhäupl KM, Villringer A, Meister W, Mehraein S, Garner C, Pellkofer M, Haberl RL, Pfister HW, Schmiedek P (1991) Heparin treatment in sinus venous thrombosis. Lancet 338: 597–600

Kalbag RM, Woolf AL (1967) Cerebral Venous Thrombosis. With Special Reference to Primary Aseptic Thrombosis. London: Oxford University Press, p 1–280

Kastenbauer S, Pfister HW (2003) Pneumococcal meningitis in adults: spectrum of complications and prognostic factors in a series of 87 cases. Brain, 126: 1015–1025

Kosinski CM, Mull M, Schwarz M, Koch B, Biniek R, Schläfer J, Milkereit E, Willmes K, Schiefer J (2004) Do normal D-dimer levels exclude cerebral sinus thrombosis? Stroke 35: 2820–2825

Kuehnen J, Schwartz A, Neff W, Hennerici M (1998) Cranial nerve syndrome in thrombosis of the transverse/sigmoid sinuses. Brain 121: 381–388

Lock G, Schölmerich J (2004) Akute mesenteriale Durchblutungsstörungen. Intensivmed 41: 153–162

Nowak-Göttl U, Junker R, Hatmeier M, Koch HG, Münchow M, Assmann G, von Eckardstein A (1999) Increased lipoprotein (a) is an important risk factor for venous thrombembolism in childhood. Circulation 100: 743–748

Renowden S (2004) Cerebral venous sinus thrombosis. Eur Radiol 14: 215–226

Stolz E, Valdueza JM, Grebe M et al. (2007) Anemia as a risk factor for cerebral venous thrombosis? An old hypothesis revisited. Results of a prospective study. J Neurol 254(6): 729–34

Stolz E, Rahimi A, Gerriets T, Kraus J, Kaps M (2005) Cerebral venous thrombosis: an all or nothing disease? Prognostic factors and long-term outcome. Clin Neurol Neurosurg 107: 99–107

## 31.4 Akute Lungenembolie

*S. Konstantinides*

### Einleitung

Die Lungenembolie ist eine lebensbedrohliche Komplikation der Venenthrombose. In 70–90% der Fälle liegt die Thrombusquelle im Stromgebiet der Femoral- und Iliakalvenen. Die Diagnose stützt sich auf die klinische Wahrscheinlichkeit, die mit Scores erfasst werden kann, bildgebende Verfahren und die D-Dimer-Bestimmung.

Das therapeutische Vorgehen orientiert sich am Schweregrad der Lungenembolie. Eine therapeutische Antikoagulation ist obligat. Patienten mit klinisch massiver Lungenembolie, die sich als persistierende arterielle Hypotension, kardiogener Schock oder reanimationspflichtiger Kreislaufkollaps manifestiert, haben ein extrem hohes Risiko, an der Lungenembolie zu versterben. Es besteht daher der Konsens, dass diese Patienten einer sofortigen aggressiven »Rekanalisationstherapie« unterzogen werden müssen. Eingesetzte Verfahren umfassen die medikamentöse Thrombolyse und die Thrombektomie.

### 31.4.1 Pathogenese und Risikofaktoren

#### Venöse Thrombose und Lungenembolie

Die akute Lungenembolie (LE) ist in fast allen Fällen die direkte Folge einer Venenthrombose. In 70–90% der Fälle, in denen eine Thrombusquelle identifiziert werden kann, liegt diese im Stromgebiet der V. cava inferior, am häufigsten in den Femoral- und Iliakalvenen. Umgekehrt entwickeln bis zu 50% der Patienten mit Beinvenenthrombosen Lungenembolien, welche jedoch meist asymptomatisch verlaufen. Etwa 10–20% der Patienten mit LE weisen eine Thrombose in den Venen der oberen Extremitäten auf. Armvenenthrombosen sind häufiger bei Patienten mit malignen Tumoren sowie bei jenen mit zentralvenösen Dauerkathetern.

#### Epidemiologie und Letalität

Laut europäischen und amerikanischen Statistiken beträgt die jährliche Inzidenz diagnostizierter venöser Thromboembolien (VTE) fast 150 Fälle pro 100.000 Einwohner. In etwa einem Drittel dieser Fälle stellt die akute LE und nicht die Venenthrombose die Hauptdiagnose dar. Insgesamt versterben schätzungsweise bis zu 200.000 Patienten in den USA und 40.000 Patienten in der Bundesrepublik jährlich an einer LE. Es wird jedoch auf der Basis von Obduktionsdaten angenommen, dass das Verhältnis zwischen diagnostizierten und unerkannten Lungenembolien bis zu 2:1 betragen kann und dass bei bis zu 70% aller Patienten, die an einer fulminanten LE versterben, keine korrekte klinische Diagnose intra vitam gestellt wird.

**Letalität der LE**

- Die in der Literatur angegebenen Letalitätsraten in der Akutphase einer LE umfassen ein sehr breites Spektrum und liegen zwischen 2 und 50%.
- Dies unterstreicht die großen Unterschiede beim klinischen Schweregrad der LE zum Zeitpunkt der Einweisung.
- Es wird geschätzt, dass insgesamt ca. 11% aller Patienten mit akuter Lungenembolie im Krankenhaus versterben, viele von ihnen ohne eine adäquate, rechtzeitige Therapie zu erhalten.
- Das höchste Todesrisiko haben Patienten, welche zum Zeitpunkt der Einweisung eine persistierende arterielle Hypotension haben oder im kardiogenen Schock sind, d. h. eine klinisch massive LE erleiden.

#### Prädisponierende Faktoren

Nach dem von Rudolf Virchow vorgeschlagenen und seit fast 200 Jahren geltenden pathophysiologischen Konzept erfordert die Pathophysiologie der VTE das Zusammenspiel von 3 kritischen Faktoren: venöse Stase, Verletzung der Gefäßwand und Hyperkoagulabilität. Alle zu einer VTE prädisponierenden Erkrankungen beeinflussen einen oder gleichzeitig mehrere dieser pathophysiologischen Prozesse. Die wichtigsten erworbenen prädisponierenden Faktoren für eine VTE bzw. LE werden in ► Kap.31.1.1 und 31.1.6 dargestellt.

**Alter.** Die jährliche Inzidenz einer VTE ist bei über 85-jährigen gegenüber 15- bis 19-jährigen fast 80-fach erhöht.

Diese starke Altersabhängigkeit ist geschlechtsunspezifisch und betrifft sowohl idiopathische als auch durch Operationen, Trauma oder Immobilisierung provozierte Lungenembolien.

**Schwangerschaft.** Die Inzidenz einer VTE, die sich bei Schwangeren in den meisten Fällen (85%) als Venenthrombose manifestiert, beträgt 0,6–1,3 Ereignisse pro 1.000 Geburten und ist damit gegenüber nicht schwangeren Frauen gleichen Alters um das 5- bis 10-fache erhöht. Statistiken aus Großbritannien und den USA registrierten in den 1990er-Jahren 1–2 Todesfälle aufgrund einer LE pro 100.000 Geburten. Belastende Faktoren sind ein höheres Alter der Mutter (>35 Jahre), Adipositas, Rauchen und (für Lungenembolien in der Stillzeit) die Entbindung per Kaiserschnitt.

**Hormontherapie.** Die Einnahme von Antikonzeptiva oder die postmenopausale Hormonsubstitution erhöht das Risiko einer LE 2- bis 4-fach. Das absolute Todesrisiko der oralen Kontrazeption gilt jedoch insgesamt als niedrig (10 venöse Thromboembolien und ein Todesfall an Lungenembolie pro 100.000 behandelten Frauen pro Jahr). Bei den älteren Patientinnen andererseits, die eine Hormonsubstitution erhalten, werden bis zu 80 tödliche Lungenembolien pro 100.000 Behandelte pro Jahr registriert.

**Hospitalisierte bzw. immobilisierte Patienten.** Diese Patientengruppe hat ein bis zu 150-fach erhöhtes Lungenembolierisiko im Vergleich zu ambulanten Personen, und eine LE ist für 12–15% aller Todesfälle im Krankenhaus verantwortlich. Diese Erkenntnis führte in den vergangenen Jahren zu der Entwicklung effektiver prophylaktischer Antikoagulationsregime sowohl im chirurgischen als auch im internistischen Bereich (siehe unten).

**Maligne Tumoren.** Große solide abdominelle Tumoren können die Beckenvenen oder die V. cava inferior direkt mechanisch komprimieren oder infiltrieren. Außerdem sind aus dem Tumor freigesetzte Zytokine in der Lage, eine Endothelschädigung herbeizuführen, während ebenfalls vom Tumor sezernierte prothrombotische und/oder antifibrinolytische Faktoren zu der systemischen Gerinnungsneigung beitragen. Bis zu 15% aller Patienten mit Tumoren entwickeln im Verlauf ihrer Erkrankung eine klinisch manifeste VTE. Lungenembolien sind die zweithäufigste Todesursache bei Krebserkrankungen. Bei Patienten mit idiopathischer LE wird – im Vergleich zu jenen mit provozierter Lungenembolie – 3- bis 19-mal häufiger ein maligner Tumor diagnostiziert. Auch im Verlauf (bis zu 10 Jahre) entwickeln diese Patienten 4- bis 5-mal häufiger eine maligne Erkrankung.

> **!** **Diese Beobachtungen weisen darauf hin, dass Tumoren vor ihrer klinischen Manifestation zu einer systemischen Thromboseneigung führen können.**

**Hereditäre Thrombophilien.** In der Gesamtbevölkerung sind die meisten hereditären Thrombophilien selten. Sie können jedoch in bis zu 50% der Fälle bei jungen Patienten mit unprovozierter LE und einer positiven Familienanamnese gefunden werden. Die wichtigsten aktuell bekannten Thrombophilien sind in ► Kap. 31.1.1 aufgeführt. Das relative Risiko, eine venöse Thromboembolie zu erleiden, ist bei den meisten genetischen Defekten mäßig erhöht und steigt nur bei der homozygoten Faktor-V-Leiden-Mutation (G1691A) und der Prothrombin-G20210A-Mutation stark an. Darüber hinaus kann die Koexistenz von mindestens 2 Defekten, beispielsweise Faktor V Leiden plus Prothrombinmutation, in einer Person das Risiko auf das 30-fache erhöhen.

## 31.4.2 Klinik und Diagnostik

### Klinische Basisdiagnostik und Ermittlung der Prätestwahrscheinlichkeit

Eine Vielzahl uncharakteristischer Thorax- und Atembeschwerden gibt im klinischen Alltag Anlass zur Verdachtsdiagnose Lungenembolie. Häufige, aber unspezifische klinische Symptome sind:

- Dyspnoe mit plötzlichem Beginn,
- pleuritische Thoraxschmerzen,
- Synkope,
- Hämoptysen.

Tachypnoe und Tachykardie sind oft vorhanden, während bei der klinischen Untersuchung der Lunge in der Regel keine charakteristischen Befunde zu erheben sind. Neben der Untersuchung des Thorax sollte systematisch nach Zeichen einer Beinvenenthrombose gesucht werden, selbst wenn die Sensitivität der klinischen Befunde auch in dieser Hinsicht sehr niedrig ist.

Die apparative Basisdiagnostik besteht aus Röntgenthoraxaufnahmen, EKG-Veränderungen und arterieller Blutgasanalyse. Die Befunde dieser Untersuchungen können den klinischen Verdacht auf LE erhärten oder abschwächen, jedoch nicht definitiv bestätigen oder widerlegen. Zur weiteren Eingrenzung der Verdachtsdiagnose ist es daher empfehlenswert, aus einer Kombination anamnestischer Angaben, klinischer Befunde und Basisdiagnostik die sogenannte klinische Wahrscheinlichkeit (KW) für das Vorliegen einer Lungenembolie zu bestimmen.

Eine standardisierte, nachvollziehbare Einschätzung der LE-Wahrscheinlichkeit als niedrig, mittel oder hoch bzw. einer LE als wahrscheinlich oder unwahrscheinlich ist

**Tab. 31.18.** Validierte Scores zur Ermittlung der klinischen (Prätest-)Wahrscheinlichkeit einer Lungenembolie

| Revidierter Genfer Score | Punkte | Wells-Score | Punkte |
|---|---|---|---|
| **Risikofaktoren** | | | |
| Frühere Venenthrombose oder LE | 3 | Frühere Venenthrombose oder LE | 1,5 |
| Operation oder Fraktur innerhalb des letzten Monats | 2 | Frische Operation oder Immobilisierung | 1,5 |
| Aktive Krebserkrankung | 2 | Aktive Krebserkrankung | 1 |
| Alter >65 Jahre | 1 | | |
| **Symptome** | | | |
| Hämoptyse | 2 | Hämoptyse | 1 |
| Einseitiger Schmerz der unteren Extremität | 3 | | |
| **Klinische Zeichen** | | | |
| Herzfrequenz 75–94 Schläge/min | 3 | Herzfrequenz >100 Schläge/min | 1,5 |
| Herzfrequenz ≥95 Schläge/min | 5 | | |
| Schmerz bei Palpation entlang der tiefen Venen, einseitiges Ödem | 4 | Klinische Zeichen einer tiefen Venenthrombose | 3 |
| **Klinische Beurteilung** | | | |
| | | LE wahrscheinlicher als alternative Diagnose | 3 |
| **Klinische Wahrscheinlichkeit** | | | |
| Niedrig | 0–3 | Niedrig | 0–1 |
| Mittel | 4–10 | Mittel | 2–6 |
| Hoch | ≥11 | Hoch | ≥7 |
| **Dichotomisierte Wahrscheinlichkeit** | | | |
| | | LE unwahrscheinlich | 0–4 |
| | | LE wahrscheinlich | >4 |

mithilfe expliziter validierter klinischer Modelle und Scores möglich. Sie kann für die Auswahl und Reihenfolge bildgebender Verfahren zur definitiven Bestätigung oder zum Ausschluss der Lungenembolie besonders hilfreich sein. Am besten untersucht und validiert sind das von Wells und Mitarbeitern vorgeschlagene Modell (Wells et al. 2001) und der kürzlich revidierte Genfer Score (Le Gal et al. 2006; Tab. 31.18).

Im Blut nachweisbare D-Dimere, die als Fibrinspaltprodukte bei endogener Fibrinolyse entstehen, deuten mit einer sehr hohen Sensitivität von ca. 95% auf frische thromboembolische Ereignisse hin. Damit erscheint ein negativer D-Dimer-Test bestens geeignet, das Vorliegen einer Lungenembolie auszuschließen:

- Bei hämodynamisch stabilen (normotensiven) Patienten mit niedriger Wahrscheinlichkeit erweisen sich zum Ausschluss einer Lungenembolie auch einfache qualitative »bedside-tests« zur D-Dimer-Bestimmung als zuverlässig. Diese Tests stellen damit eine praktische Alternative insbesondere zum Screening ambulanter Patienten dar.
- Dagegen eignet sich bei mittlerer klinischer Wahrscheinlichkeit (Tab. 31.18) nur der sensitivere, quantitative ELISA zum Ausschluss einer Lungenembolie.

**Cave**

Qualitative oder quantitative D-Dimer-Tests sind ungeeignet zur notfallmäßigen diagnostischen Abklärung klinisch instabiler Patienten mit Verdacht auf massive Lungenembolie.

In aktuellen diagnostischen Algorithmen wird der D-Dimer-Test nicht als eigenständiger Parameter verwendet, sondern von vornherein mit der klinischen Wahrscheinlichkeit kombiniert (Torbicki et al. 2008; Interdisziplinäre

S2-Leitlinie 2005). So wurde beispielsweise die Bestimmung der klinischen Wahrscheinlichkeit mit einer Kombination aus dichotomisiertem Wells-Score (▣ Tab. 31.18), dem Ergebnis des D-Dimer-Tests und der CT-Angiographie hinsichtlich ihres diagnostischen Stellenwerts und der Konsequenzen für das Management der LE in der kürzlich veröffentlichten CHRISTOPHER-Studie validiert (van Belle et al. 2006):

- Die Inzidenz von VTE-Rezidiven betrug bei unbehandelten Patienten mit niedrigem Wells-Score (bzw. einer klinisch unwahrscheinlichen LE nach dem dichotomisierten Score) und negativem D-Dimer-Test im Verlauf von 3 Monaten lediglich 0,5%, sodass in diesen Fällen keine medikamentöse Rezidivprophylaxe (Antikoagulation) notwendig ist.
- Bei Patienten mit niedriger klinischer Wahrscheinlichkeit aber pathologischem D-Dimer-Test oder bei Patienten mit wahrscheinlicher LE (Wells-Score >4) ist dagegen für weitere therapeutische Entscheidungen eine bildgebende Diagnostik (meist mittels CT-Angiographie) notwendig.



Der in ▣ Abb. 31.10 dargestellte Algorithmus wird in der aktuellen Leitlinie (2008) der European Society of Cardiology empfohlen (Torbicki et al. 2008).

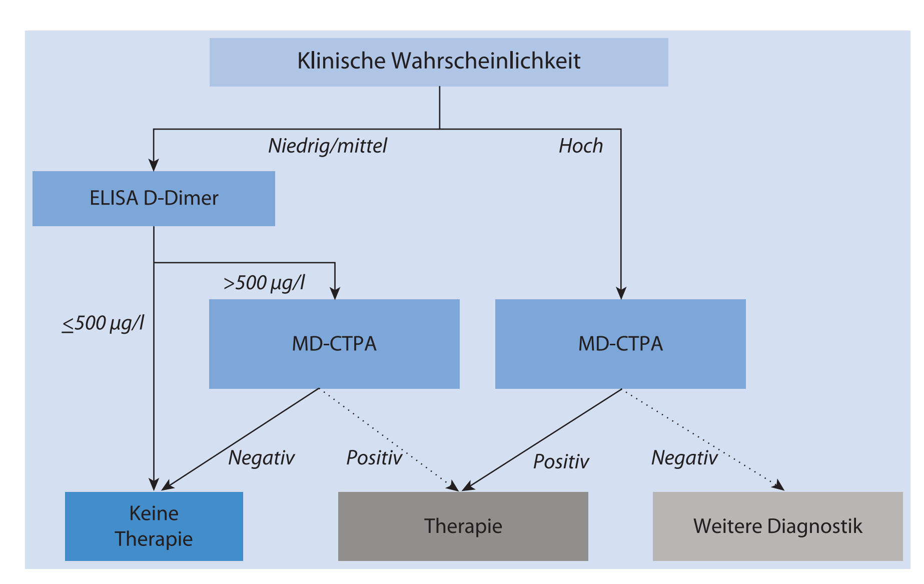
### Bildgebende diagnostische Verfahren

**Sonographie der Beinvenen.** Die Sonographie des tiefen Beinvenensystems ist ein nicht strahlenbelastendes, nicht invasives und schnell durchführbares bildgebendes Verfahren. Die ursprünglich eingesetzte flusskodierte Dopplersonographie ist durch die Echtzeitkompressionssonographie (CUS) des tiefen Venensystems ersetzt worden. Alle Protokolle verwenden die Nicht-Komprimierbarkeit der Venensegmente als führendes diagnostisches Kriterium. Um die diagnostische Genauigkeit der CUS zu verbessern, werden in Zentren mit Expertise in diesem Verfahren standardisierte Untersuchungsprotokolle eingesetzt.

Dabei scheint insbesondere die komplette Kompressionssonographie (CCUS) von Bedeutung zu sein. Bei der CCUS wird eine systematische manuelle Kompression und anschließende Entlastung des Venenquerschnitts aller Venensegmente der Beine in definierter Patientenposition durchgeführt, beginnend in der Leistenregion und absteigend bis zu den distalen Wadenvenen.

**Echtzeitkompressionssonographie (CUS)**

- In validierten, aktuell empfohlenen diagnostischen Algorithmen wird die CUS als einem Computertomogramm oder Lungenszintigramm vorgeschaltete bildgebende Untersuchung bei Patienten mit hoher klinischer Wahrscheinlichkeit für LE oder bei jenen mit einem positiven D-Dimer-Test eingesetzt.
- Bei positivem Befund (Nachweis einer Venenthrombose) gilt auch die akute LE als gesichert, und es kann mit der Therapie und Sekundärprophylaxe begonnen werden.
- Negative oder nicht diagnostische Befunde bedürfen dagegen weiterer Abklärung mittels Lungenszintigraphie oder computertomographischer Pulmonalisangiographie (CTPA).




▣ **Abb. 31.10.** Vereinfachter diagnostischer Algorithmus für den hämodynamisch stabilen Patienten mit Verdacht auf Lungenembolie auf der Basis neuester Daten zur Zuverlässigkeit der Multidetektor-Computertomographie (MD-CTPA)

**Ventilationsperfusionsszintigraphie.** Der szintigraphische Befund einer normalen Lungenperfusion schließt mit großer Sicherheit eine Lungenembolie aus, und bei kombinierter Perfusions- und Ventilationsuntersuchung stellt ein isoliertes Perfusionsdefizit bei normaler Ventilation (sogenannter »mismatch«) die Diagnose der LE und damit die Indikation zur Antikoagulation. Kombinierte (»matched«) Ventilations- und Perfusionsdefizite sind dagegen nicht diagnoseweisend und machen eine weitere Abklärung mittels eines zweiten bildgebenden Verfahrens erforderlich.

Diagnostische Algorithmen, die sich auf die Szintigraphie in Kombination mit klinischer Wahrscheinlichkeit und D-Dimer-Test stützen, haben sich als zuverlässig erwiesen und werden noch in bisherigen Leitlinien empfohlen. Dabei ist zu beachten, dass szintigraphiebasierte Algorithmen eine vorgeschaltete Sonographie der Beinvenen (siehe oben) erfordern, und dass darüber hinaus weitere bildgebende Verfahren (Computertomographie, selektive Pulmonalisangiographie) notwendig sein können, um die vermutete LE definitiv zu bestätigen oder auszuschließen (Perrier 2007; Torbicki et al. 2008).

**Konventionelle Pulmonalisangiographie.** Die invasive Pulmonalisangiographie hat in Zusammenhang mit der LE-Diagnostik an klinischer Bedeutung verloren und ist nur noch in seltenen Fällen mit unklaren Befunden indiziert. Sie bleibt eine sinnvolle Option bei ausgewählten instabilen Patienten mit massiver Lungenembolie, insbesondere wenn eine thrombolytische Therapie kontraindiziert ist und interventionelle gefäßrekanalisierende Maßnahmen – beispielsweise durch Aspirationssysteme oder Fragmentationstechniken – geplant sind. Außerdem ist sie für die Planung gefäßchirurgischer Eingriffe (Thrombendarterektomie) bei chronisch thromboembolischer pulmonaler Hypertonie (CTEPH) notwendig.

### Computertomographische Pulmonalisangiographie (CTPA) bei stabilen Patienten

Die Darstellung der Pulmonalarterien mittels CTPA hat in den letzten Jahren die konventionelle Pulmonalisangiographie als Goldstandard der Lungenemboliediagnostik weitgehend abgelöst. Durch rasche technische Verbesserungen erlaubt die gegenwärtige Generation von Multidetektorscannern (MDCT) eine Aufnahmezeit von weniger als 10 s für den gesamten Thorax. Auch die Auflösung befindet sich inzwischen im Submillimeterbereich. Die Diagnose einer LE in der CTPA beruht in der Regel auf dem direkten Nachweis eines zentralen Kontrastmittelfüllungsdefekts in einer Pulmonalarterie, dessen Rand von einem Kontrastmittelsaum umgeben ist. Auch ein plötzlicher Gefäßabbruch oder eine fehlende Gefäßkontrastierung weisen auf eine Lungenembolie hin, können aber schwieriger zu erkennen sein.

Während noch geltende diagnostische Algorithmen (Perrier 2007) auf der Basis älterer Studien darauf hinweisen, dass die Spiral-CT der 1. Generation (mittels sogenannter Einzeilerdetektoren) als alleinige bildgebende Methode zum Ausschluss einer Lungenembolie nicht ausreicht (diagnostische Sensitivität 60–70%; ◘ Abb. 31.11), konnte in einer 2005 veröffentlichten Studie die diagnostische Zuverlässigkeit der modernen Multidetektor-CTPA in Kombination mit der klinischen Wahrscheinlichkeit und D-Dimer-Bestimmung nachgewiesen werden (Perrier et al. 2005). In dieser Untersuchung wurde ermittelt, dass der Ausschluss einer LE auf dem Boden der klinischen Wahrscheinlichkeit, des D-Dimer-Tests und der MD-CTPA ohne weitere bildgebende Verfahren ein 3-Montasrezidivrisiko von nur 1,5% zur Folge gehabt hätte. Diese Rezidivrate entspricht der prognostischen Wertigkeit eines negativen invasiven Pulmonalisangiogramms in der PIOPED-Studie und zeigt, dass die Sensitivität beider Verfahren inzwischen vergleichbar ist.

In Übereinstimmung mit diesen Ergebnissen lieferte die CHRISTOPHER-Studie, eine prospektive Managementstudie an 3.306 Patienten mit klinisch vermuteter LE, eine solide Basis für einen vereinfachten MDCT-gestützten diagnostischen LE-Algorithmus (van Belle et al. 2006; ◘ Abb. 31.10). Mithilfe des dichotomisierten Wells-Scores und eines D-Dimer-Tests (ELISA) konnte die LE bei 32% der Patienten mit vermuteter LE ohne weitere Diagnostik ausgeschlossen werden. Die übrigen Patienten wurden einer CTPA unterzogen, in den meisten Fällen (88%) mittels moderner Multidetektortechnik. Damit konnte eine LE bei 20% aller Patienten bestätigt werden. Die Patienten mit Ausschluss einer LE in der CTPA erhielten bis auf sehr wenige Ausnahmen keine Antikoagulation. In dieser Gruppe betrug die 3-Montasrezidivrate 1,3% und die 3-Monats-Todesrate (möglicherweise LE-bedingte Todesfälle) 0,5%. Insgesamt erlaubte diese diagnostische Strategie eine therapeutische Entscheidung in 98% der Fälle.

In der 2006 veröffentlichten PIOPED-II-Studie zeigte sich schließlich für die Multidetektor-CTPA (meist 4-Zeilentechnik) eine diagnostische Sensitivität von 83% und eine Spezifität von 96% (Stein et al 2006). Umstritten bleibt dagegen, inwiefern die eher geringe Verbesserung der Aussagefähigkeit durch die Kombination der CTPA mit CT-Venographie die vermehrte Strahlenbelastung durch das kombinierte Verfahren rechtfertigt (Stein et al. 2007).

### Computertomographische Pulmonalisangiographie und Echokardiographie bei hämodynamisch instabilenPatienten

Arterielle Hypotension und kardiogener Schock bzw. Kreislaufkollaps mit Reanimationspflichtigkeit weisen, wie bereits erwähnt, auf eine klinisch massive Lungenembolie hin. Dieses Krankheitsbild – etwa 5% aller Lungenemboliefälle

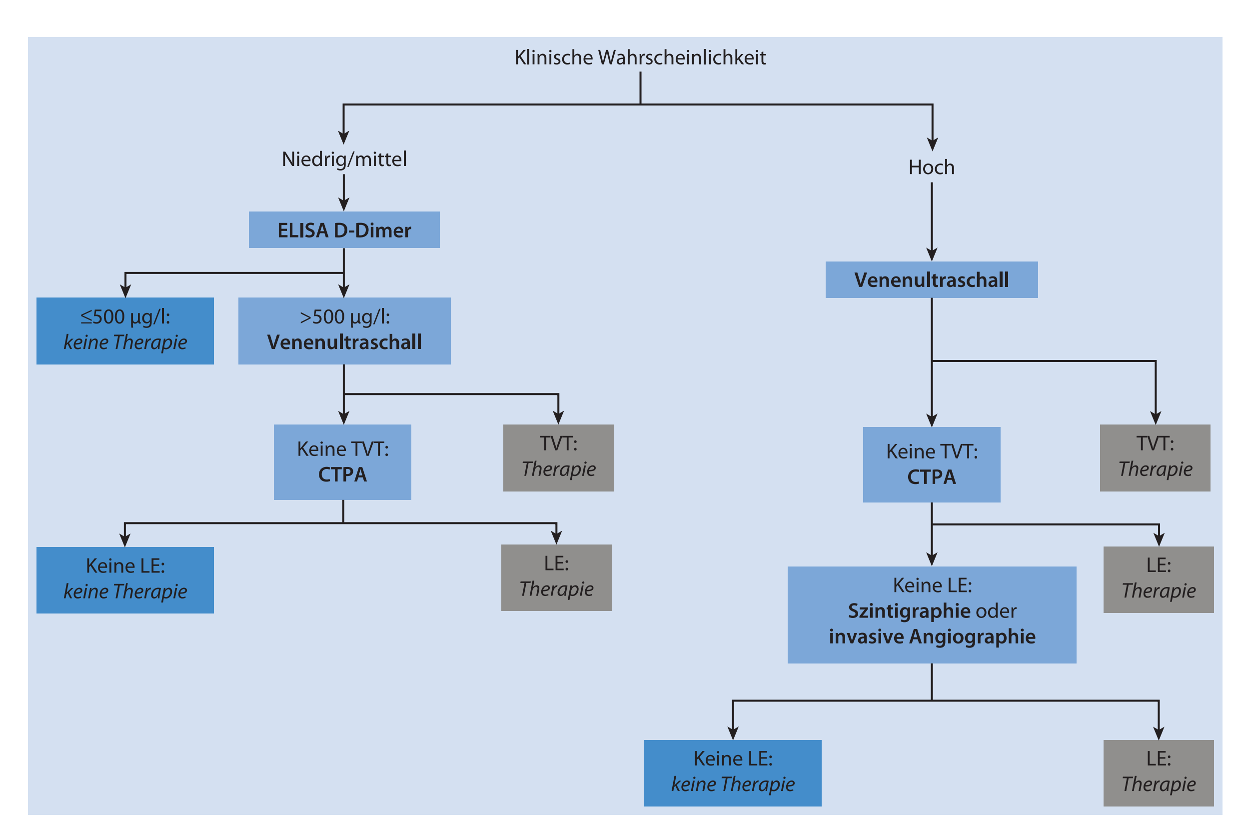



**Abb. 31.11.** Bisher geltender, validierter diagnostischer Algorithmus auf der Basis der computertomographischen Pulmonalisangiographie (*CTPA*) mit Detektoren der ersten Generation. Der Algorithmus berücksichtigt die relativ niedrige diagnostische Sensitivität älterer Geräte und erfordert daher eine Kompressionssonographie als vorgeschaltete Untersuchung. *LE* Lungenembolie, *TVT* tiefe Venenthrombose

31

– ist mit einer sehr hohen Hospitalletalität von bis zu 65% verbunden. Da sich zudem bis zu 90% aller Todesfälle in den ersten 1–2 h nach Einweisung der Patienten ins Krankenhaus ereignen, sind bei massiver Lungenembolie sofortige medikamentöse, kathetertechnische oder operative Rekanalisationsmaßnahmen erforderlich.

Das Ergebnis eines D-Dimer-Tests kann bei kritisch kranken Patienten nicht abgewartet werden.

**! Eine sofortige bildgebende Diagnostik hat absolute Priorität. Wenn eine CTPA nicht umgehend durchgeführt werden kann, stellt die transthorakale – bei beatmeten Patienten transösophageale – Echokardiographie am Krankenbett den wichtigsten Schritt im diagnostischen Algorithmus dar (Torbicki et al. 2008; Abb. 31.12).**

Diese ermöglicht beispielsweise den Ausschluss differenzialdiagnostisch wichtiger Ursachen einer hämodynamischen Instabilität (linksventrikuläres Pumpversagen, Klappenerkrankungen, Aortendissektion, Perikardtamponade). Darüber hinaus kann bei Vorliegen einer massiven Lungenembolie die akute rechtsventrikuläre Dysfunktion diagnostiziert werden. Ferner können große flottierende Thromben in den rechtskardialen Höhlen oder in den proximalen Abschnitten der Pulmonalarterie festgestellt werden. In diesen Fällen sollte unverzüglich mit der Therapie (Thrombolyse oder Notfallembolektomie) begonnen werden. Bei eingeschränkten Untersuchungsbedingungen (schwere Adipositas, Lungenemphysem) oder einem nicht diagnostischen Echokardiogramm sind allerdings zusätzliche bzw. alternative diagnostische Verfahren notwendig. In dieser Hinsicht kann in ausgewählten Fällen die invasive Pulmonalisangiographie eine sinnvolle Option sein, insbesondere wenn interventionelle gefäßrekanalisierende Maßnahmen geplant sind.

### 31.4.3 Therapie

#### Antikoagulation mit Heparin

**Unfraktioniertes Heparin** (UFH) wird seit fast 50 Jahren in der Therapie der venösen Thromboembolie eingesetzt. Deutsche und europäische Leitlinien empfehlen, Patienten mit hoher klinischer Wahrscheinlichkeit einer akuten Lungenembolie umgehend mit Heparin zu behandeln, ohne eine definitive Bestätigung der Lungenembolie mittels bild-

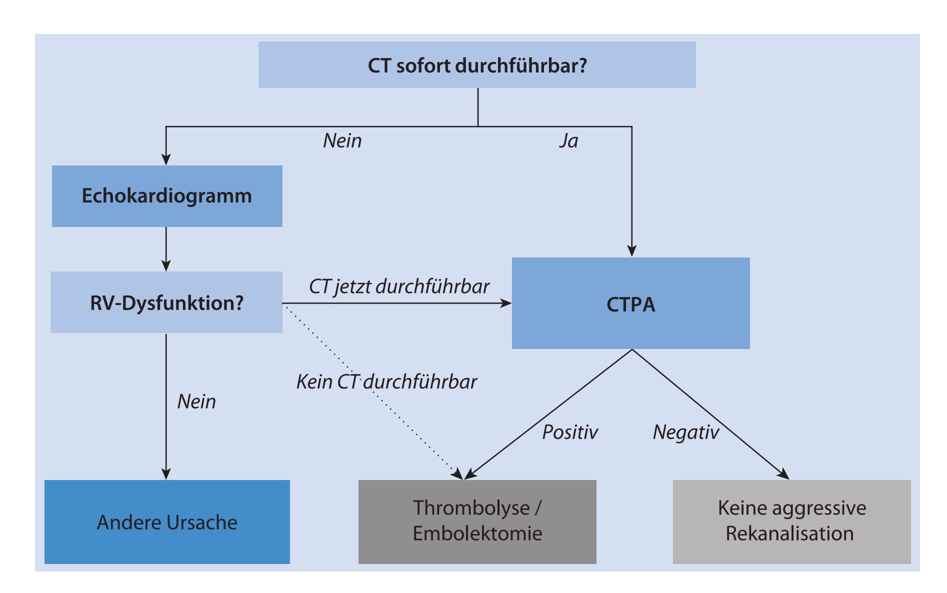



**Abb. 31.12.** Algorithmus für den hämodynamisch instabilen Patienten mit Verdacht auf massive Lungenembolie. *CTPA* computertomographische Pulmonalisangiographie; *RV* rechtsventrikulär

gebender Verfahren abzuwarten (Torbicki et al. 2008; Interdisziplinäre S2-Leitlinie 2005).

Begonnen wird mit einem Bolus von UFH in der Dosis von 80 IE/kg intravenös gefolgt von einer Dauerinfusion mit 18 IE/kgKG pro Stunde. Nach Bestätigung der Lungenembolie wird die Infusionsrate in Abhängigkeit von der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (APTT) angepasst. Diese sollte durchgehend um das 2,0- bis 2,5-fache des Kontrollwerts verlängert sein, um eine effektive Antikoagulation zu gewährleisten. Die Anpassung der Infusionsdosis kann empirisch oder mithilfe getesteter Normogramme erfolgen (Raschke et al. 1993). Bei hämodynamisch stabilen, normotensiven Patienten ohne manifestes rechtsventrikuläres Versagen kann bereits am ersten oder am zweiten Tag überlappend mit der Einnahme von Vitamin-K-Antagonisten (oralen Antikoagulanzien) begonnen werden. Die Heparininfusion wird beendet, sobald der INR-Wert an 2 aufeinander folgenden Tagen im therapeutischen Bereich (2,0–3,0) liegt.

**Niedermolekulare Heparine** (NMH) weisen eine exzellente Bioverfügbarkeit nach subkutaner Injektion sowie eine zuverlässige, gleichmäßige Wirkung über 12 bzw. 24 h auf und ermöglichen damit die »einfache« Verabreichung 1- oder 2-mal täglich anstelle einer Dauerinfusion. Untersuchungen zur Effektivität und Sicherheit der NMH haben übereinstimmend gezeigt, dass NMH im Hinblick auf den Endpunkt »symptomatische Rezidivthrombosen oder Lungenembolien« dem UFH mindestens ebenbürtig sind (Quinlan et al. 2004). Es bestehen ebenfalls keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf das Auftreten kleiner Blutungen oder größerer, potenziell lebensbedrohlicher Blutungskomplikationen. Die Effektivität und Sicherheit des Pentasaccharids Fondaparinux ist ebenfalls belegt (Buller et al. 2003).

Explizit für die Behandlung der akuten Lungenembolie sind Tinzaparin, Enoxaparin und Fondaparinux zugelassen (Tab. 31.19). Die Wirksamkeit der NMH ist bei hämodynamisch instabilen Patienten mit massiver Lungenembolie nicht getestet. Das therapeutische Indikationsspektrum der anderen NMH beschränkt sich auf die tiefe Venenthrombose.

NMH erhöhen nicht die APTT, und eine Bestimmung der Anti-Faktor-Xa-Aktivität ist in der Regel nicht notwendig. Diese erscheint allerdings bei alten Patienten, bei ausgeprägtem Über- oder Untergewicht, bei eingeschränkter Nierenfunktion und in der Schwangerschaft sinnvoll. Der Anti-FXa-Spiegel sollte in diesen Fällen 4 h nach der subkutanen Injektion bestimmt werden und zwischen 0,6 und 1,0 E/ml liegen.

Eine frühe Mobilisierung des Patienten mit akuter LE ist unter der Voraussetzung adäquater Heparinantikoagulation zu empfehlen, vorausgesetzt dass der Allgemeinzu-

**Tab. 31.19.** Für die Therapie der akuten Lungenembolie zugelassene niedermolekulare Heparine und Fondaparinux

| Präparat | Dosis | Intervall |
|---|---|---|
| Enoxaparin | 1,0 mg/kgKG | 12-stündlich |
| Tinzaparin | 175 E/kgKG | 1-mal täglich |
| Fondaparinux | – 5 mg bei KG<50 kg<br>– 7,5 mg bei KG 50–100 kg<br>– 10 mg bei KG >100 kg | 1-mal täglich |

stand, begleitende Krankheiten oder lokale Beschwerden in den unteren Extremitäten (schmerzhafte Beinschwellung) oder dem Thorax (atemabhängige Schmerzen, Husten, Hämoptysen) es erlauben. Da die Emboli in der Pulmonalarterie meist aus den Beinvenen stammen, wird die Kompressionstherapie als ergänzende Maßnahme zu der frühen Mobilisierung empfohlen. Diese Empfehlungen gelten für normotensive, hämodynamisch stabile Patienten bis auf jene mit Nachweis einer rechtsventrikulären Dysfunktion, welche grundsätzlich einer Intensivüberwachung bis zum Rückgang der Rechtsherzbelastungszeichen bedürfen.

### Thrombolyse und Risikostratifizierung der Lungenembolie

Die Thrombolytika Streptokinase, Urokinase und Alteplase (rekombinanter Plasminogenaktivator) führen zu einer raschen Auflösung pulmonalarterieller Thromben und damit zu einer effektiven Senkung des Pulmonalgefäßwiderstands und des pulmonalarteriellen Drucks. Ihre Wirksamkeit ist in den vergangenen 35 Jahren in zahlreichen Beobachtungen und in einigen kontrollierten Studien bestätigt worden. Die getesteten und validierten Schemata dieser Präparate in der Therapie der akuten Lungenembolie sind in Tab. 31.20 aufgeführt.

**Cave**

Die Infusion von unfraktioniertem Heparin sollte während der Lyse mit Streptokinase oder Urokinase unterbrochen werden: Während der Gabe von Alteplase dagegen darf sie fortgeführt werden.

Thrombolytika sind mit einem beträchtlichen Risiko von Blutungskomplikationen verbunden. Daten aus kontrollierten Lysestudien zeigen, dass bei 19% der Patienten mit LE signifikante Blutungen und bei 2% lebensbedrohliche intrakranielle Hämorrhagien zu erwarten sind. Insgesamt führt das hohe Blutungsrisiko in Kombination mit Beobachtungen, dass eine Verbesserung der hämodynamischen Parameter auch unter Heparin alleine – mit einer 3- bis 7-tägigen Verzögerung im Vergleich zur Thrombolyse – eintreten kann, zu der Erkenntnis, dass die Thrombolyse nur für die Behandlung von Patienten mit einem hohen Todesrisiko in den ersten Stunden oder Tagen nach Manifestation der akuten Lungenembolie infrage kommt.

Auf der Basis dieser Überlegungen hat sich die Vorgehensweise in Hinsicht auf die Thrombolyse nach der Risikostratifizierung der Patienten zu richten (Konstantinides 2008).

**Tab. 31.20.** In prospektiven Studien validierte thrombolytische Schemata für die Lungenembolie

| Fibrinolytikum | Dosierung |
|---|---|
| Streptokinase | 250.000 E Aufsättigungsdosis über 30 min; anschl. 100.000 E/h über 12–24 h* |
| | Alternatives Schema: 1,5 Mio. E über 2 h |
| Urokinase | 4.400 E/kgKG Aufsättigungsdosis über 10 min; anschl. 4.400 E/kgKG/h über 12–24 h* |
| | Alternatives Schema: 3 Mio. E über 2 h |
| Alteplase | 100 mg über 2 h* |
| | Alternatives Schema: 0,6 mg/kgKG über 15 min* |
| Reteplase | 2 Bolusinjektionen à 10 E im Abstand von 30 min |

*Zugelassene Schemata

**Hohes Risiko, massive Lungenembolie.** Patienten mit klinisch massiver Lungenembolie, die sich als persistierende arterielle Hypotension, kardiogener Schock oder reanimationspflichtiger Kreislaufkollaps manifestiert, haben ein extrem hohes Risiko, an der Lungenembolie zu versterben. Es besteht daher der Konsens, dass diese Patienten einer sofortigen aggressiven »Rekanalisationstherapie« zur Entlastung des rechten Ventrikels bedürfen (Torbicki et al. 2008; Interdisziplinäre S2-Leitlinie 2005; Kearon et al. 2008). Die systemische Thrombolyse ist die Therapie der Wahl. Bei absoluter Kontraindikation gegen die Lyse können, je nach Logistik und Expertise im jeweiligen Zentrum, operative oder interventionelle Rekanalisationsverfahren angewendet werden (siehe unten). Bei Patienten mit flottierenden rechtskardialen Thromben sowie bei jenen mit Rechts-links-Shunt auf dem Boden eines (ventil-)offenen Foramen ovale erscheint die Lyse ebenfalls eine sinnvolle Option, auch wenn hinsichtlich dieser Indikationen keine kontrollierten Daten vorliegen (Torbicki et al. 2003; Konstantinides et al. 1998).

**Niedriges Risiko, nichtmassive Lungenembolie.** Zahlreiche Studien haben gezeigt, dass hämodynamisch stabile, normotensive Patienten ohne Hinweis auf eine rechtsventrikuläre Dysfunktion unter effektiver Antikoagulation eine exzellente Akutprognose und eine Letalitätsrate von ≤2% haben. Daher besteht in dieser Patientengruppe keine Indikation zur Thrombolyse oder mechanischen Rekanalisation (Wan et al. 2004). Die gewichtsadaptierte Injektion eines niedermolekularen Heparins ist für die meisten Patienten dieser Gruppe die erste Wahl. Eine frühe Mobilisierung wird grundsätzlich empfohlen, und mit der oralen Antikoagulation (Vitamin-K-Antagonisten) kann bereits am 2. Tag begonnen werden.

**Mittleres Risiko – normotensive Patienten mit rechtsventrikulärer Dysfunktion und/oder Myokardnekrose.** Patienten mit normalem arteriellem Blutdruck zum Zeitpunkt

der Diagnose aber Nachweis einer rechtsventrikulären Dysfunktion/Myokardnekrose mittels bildgebender Verfahren (Echokardiographie oder Computertomographie) oder Biomarkertests (Troponin, NT-pro BNP, Fatty Acid-Binding Protein) können nach den Ergebnissen zahlreicher (wenn auch unkontrollierter) Studien eine Letalitätsrate von bis zu 35% haben (Becattini et al. 2007; Puls et al. 2007; Kucher et al. 2005; Scridon et al. 2005).

Nach neuesten Erkenntnissen erscheint die Kombination eines erhöhten Biomarkerspiegels (Troponin I/T) mit einer Hypokinesie oder Dilatation des rechten Ventrikels im Echokardiogramm oder CT am besten geeignet, um Patienten mit deutlich erhöhtem Risiko eines ungünstigen Verlaufs zu identifizieren (Binder et al. 2005).

**! Ungeachtet dessen bleibt die Thrombolyseindikation in dieser Patientengruppe aktuell umstritten.**

Die einzige kontrollierte Studie, welche die klinischen Vorteile einer Therapie mit Alteplase bei stabilen Patienten mit RV-Dysfunktion untersuchte, konnte eine signifikante Reduktion des kombinierten Endpunkts »Mortalität oder Therapieeskalation« nachweisen (Konstantinides et al. 2002). Die Gesamtmortalität war jedoch in beiden Behandlungsgruppen (Thrombolyse plus Heparin vs. Heparin alleine) niedrig. Mit dem Stellenwert der Thrombolyse bei submassiver Lungenembolie befasst sich aktuell eine große multizentrische europäische Studie.

### Interventionelle Maßnahmen

Eine chirurgische Notfallembolektomie kommt bei Patienten mit massiver Lungenembolie in Betracht. Sie ist gegenwärtig in folgenden Situationen als Alternative zur Thrombolyse zu empfehlen:

- absolute Kontraindikation(en) gegen die Thrombolyse (frische intrakranielle Blutung oder andere unkontrollierte innere Blutung,
- erfolglose Thrombolyse (ca. 8% aller thrombolytisch behandelten Patienten mit Lungenembolie),
- große flottierende Thromben in den rechtskardialen Höhlen oder im Stamm der Pulmonalarterie.

Wenn eine Embolektomie bei massiver Lungenembolie infrage kommt, ist es ratsam, den Herzchirurgen frühzeitig und nicht erst nach Eintreten einer therapierefraktären Kreislaufinstabilität oder Reanimationspflichtigkeit zu involvieren. Auf diese Weise kann die perioperative Letalität relativ niedrig (ca. 10%) gehalten werden (Leacche et al. 2005).

Die perkutane, kathetertechnische Embolektomie bzw. Thrombusaspiration ist ein Eingriff, der – unter der Voraussetzung vorhandener Expertise und Logistik – ebenfalls bei massiver LE und kontraindizierter oder erfolgloser Thrombolyse angeboten werden kann. Unter Umständen kann ihr Einsatz mit lokaler Thrombolyse kombiniert werden.

Der Einsatz von Cavafiltern als Rezidivprophylaxe wird in der Therapie der akuten LE nicht routinemäßig empfohlen. Cavafilter können jedoch indiziert sein, wenn eine therapeutische Antikoagulation wegen massiver Blutungsgefahr nicht möglich ist oder LE-Rezidive trotz suffizienter Antikoagulation auftreten. Die zeitliche Begrenzung der Filterimplantation (Einsatz temporärer, wiederentfernbarer Filter) ist anzustreben, um sekundäre Cavathrombosen und Thromboembolien zu vermeiden.

### Orale Antikoagulation und sekundäre Prophylaxe

Ohne dauerhafte, effektive Sekundärprophylaxe kann die Rezidivrate symptomatischer venöser Thrombosen und Lungenembolien bis zu 30% in einem Zeitraum von 8–10 Jahren betragen (Hansson et al. 2000; Heit et al. 2000; Prandoni et al. 1996). Diese Tatsache unterstreicht die Notwendigkeit der Therapie mit oralen Antikoagulanzien. Dabei sollte bei stabilen Patienten bereits am 1. oder 2. Tag mit der Einnahme von Vitamin-K-Antagonisten begonnen werden. Die Heparinbehandlung wird zunächst überlappend weitergeführt und erst dann beendet, wenn die International Normalized Ratio (INR) an 2 aufeinander folgenden Tagen im therapeutischen Bereich (2,0–3,0) liegt.

Die aktuell empfohlene Dauer der oralen Antikoagulation (Interdisziplinäre S2-Leitlinie 2005; Kearon et al. 2008) richtet sich

- nach dem Vorliegen temporärer prädisponierender bzw. »provozierender« Risikofaktoren für eine LE wie Operation, Trauma, Immobilisierung, Flugreise, Schwangerschaft oder Stillzeit, Antikonzeption oder postmenopausale Hormontherapie sowie
- nach dem Alter des Patienten, dem Vorliegen einer hereditären Thrombophilie, eines Antiphospholipidsyndroms oder einer aktiven Krebserkrankung.

Von kritischer Bedeutung ist außerdem, ob es sich um das erste Thromboembolieereignis oder um ein Rezidiv handelt.

**! Grundsätzlich wird eine mindestens 3-monatige Antikoagulation nach dem ersten Ereignis einer idiopathischen Lungenembolie empfohlen.**

Dies ist ein Kompromiss auf der Basis folgender Tatsachen und Überlegungen:

- Das Langzeitrisiko eines Rezidivs ist, wie bereits erwähnt, ohne eine effektive Prophylaxe mittels Vitamin-K-Antagonisten besonders hoch.
- Die dauerhafte Einnahme von Vitamin-K-Antagonisten reduziert das Rezidivrisiko um fast 90% (Kearon et al. 1999).
- Das Rezidivrisiko erhöht sich erneut, sobald die Vitamin-K-Antagonisten abgesetzt werden, sodass theoretisch für alle Patienten eine lebenslange Antikoagulation zu erwägen wäre (Douketis et al. 2007).

- Die chronische Einnahme von Vitamin-K-Antagonisten ist allerdings mit einem beträchtlichen Blutungsrisiko verbunden: Die Inzidenz signifikanter Blutungen beträgt bis zu 2,7%, die intrakranielle Blutungsrate bis zu 0,65% pro Jahr (Linkins et al. 2003).

Aktuelle Strategien zur Optimierung der Sekundärprophylaxe konzentrieren sich auf die Identifizierung jener Patienten, die nach Absetzen der Antikoagulation ein besonders hohes Rezidivrisiko haben könnten. Eine vielversprechende Strategie erscheint die Bestimmung der D-Dimer-Konzentration einen Monat nach Absetzen der Vitamin-K-Antagonisten. In der kürzlich publizierten PROLONG-Studie mit 619 eingeschlossenen Patienten und einer mittleren Beobachtungszeit von 1,4 Jahren nach VTE führte die Wiederaufnahme der Antikoagulation bei positivem D-Dimer-Test zu einer fast 80%igen Reduktion des Rezidivrisikos verglichen mit Patienten, die unbehandelt blieben (Palareti et al. 2006). Wenn diese Ergebnisse durch weitere Studien bestätigt werden, könnte sich der D-Dimer-Test zu einer schnellen, sehr praktischen Methode für die Bestimmung der Antikoagulationsdauer entwickeln.



In ausgewählten Fällen kann eine Langzeitbehandlung mit niedermolekularem Heparin in therapeutischer, gewichtsadaptierter Dosierung eine akzeptable Alternative zum Einsatz oraler Antikoagulanzien sein. Eine Metaanalyse von 7 Studien mit insgesamt 1.379 Patienten zeigte, dass sowohl die Wirksamkeit (hinsichtlich Rezidivprophylaxe) als auch das Blutungsrisiko beider Therapieregime vergleichbar sind (Iorio et al. 2003). Das aus der Langzeittherapie mit UFH bekannte Osteoporoserisiko scheint beim Einsatz von NMH gering zu sein (Bates et al. 2004).

Eine mögliche Indikation für eine Dauerbehandlung (über mehrere Monate) mit NMH können maligne Tumoren darstellen. So verglich eine große kontrollierte Untersuchung an Patienten mit aktiver Krebserkrankung und symptomatischer LE und/oder Beinvenenthrombose die Wirksamkeit und Sicherheit des NMH Dalteparin mit jener der oralen Vitamin-K-Antagonisten Warfarin oder Acenocoumarol über 6 Monate (Lee et al. 2003). Dalteparin führte zu einer Halbierung der Rezidivrate thromboembolischer Ereignisse (8,1% vs. 16% unter Vitamin-K-Antagonisten) ohne signifikante Änderung der Blutungsrate.

## 31.4.4 Primärprävention der Lungenembolie

### Chirurgie

Die Entstehung von Venenthrombosen und Lungenembolien in der perioperativen Phase hängt einerseits vom Vorliegen patientenbezogener (dispositioneller) Risikofaktoren und andererseits von Art und Umfang des operativen Eingriffs sowie von der Dauer der Immobilisation (expositionelles Risiko) ab. Unter Berücksichtigung dieser individuellen Faktoren und des operationsspezifischen Expositionsrisikos wurden die chirurgischen Patienten in 3 Risikogruppen stratifiziert. Diese Gruppen, die in nationalen und internationalen Leitlinien definiert wurden (Geerts et al. 2004; Encke et al. 2003; Agnelli 2004), sind in ◻ Tab. 31.21 dargestellt.

Darüber hinaus definieren manche Fachgesellschaften eine besonders gefährdete Gruppe (»höchstes Risiko«), nämlich Patienten mit Polytrauma oder Rückenmarksverletzungen und jene, die Hüft- oder Knieendoprothesen erhalten (Agnelli 2004). Ohne Prophylaxe beträgt das Risiko einer proximalen Venenthrombose in dieser Gruppe 10–20%, das Risiko einer Lungenembolie 4–10% und das Todesrisiko bis zu 5%.

Für die genannten Risikogruppen gelten die in der Übersicht dargestellten Empfehlungen hinsichtlich der medikamentösen Primärprävention (prophylaktischen Antikoagulation) in der perioperativen Phase.

**◻ Tab. 31.21.** Venöses Thromboserisiko in der Chirurgie

| Risiko | Risikoprofil | Inzidenz ohne Prophylaxe [%] |
|---|---|---|
| Niedrig | – Kleinere oder mittlere Eingriffe, geringe Traumatisierung oder Verletzungen mit geringem Weichteilschaden<br>– Alter <40 Jahre<br>– keine dispositionellen Risikofaktoren | – Proximale tiefe Venenthrombose: 0,4<br>– Lungenembolie: 0,2<br>– Tod: <0,01 |
| Mittel | – Eingriffe oder Verletzungen wie bei niedrigem Risiko<br>– Alter 40–60 Jahre *oder*<br>– dispositionelle Risikofaktoren | – Proximale tiefe Venenthrombose: 2–4<br>– Lungenembolie: 1–2<br>– Tod: 0,1–0,4 |
| Hoch | – Größere Eingriffe in der Brust-, Bauch- und Beckenregion *oder*<br>– Alter >60 Jahre *oder*<br>– Alter 40–60 Jahre, aber Patient mit dispositionellen Risikofaktoren | – Proximale tiefe Venenthrombose: 4–8<br>– Lungenembolie: 2–4<br>– Tod: 0,4–1,0 |

**Perioperative prophylaktische Antikoagulation**

- **Niedriges Risiko:** Bis auf die frühe Mobilisierung des Patienten keine spezifische Thromboseprophylaxe.
- **Mittleres Risiko:** UFH in der Dosis von 5.000 E 2-mal täglich subkutan; alternativ NMH in der Dosis von <3.400 Anti-Faktor-X-Einheiten (gewichtsunabhängig) 1-mal täglich subkutan.
- **Hohes Risiko:** UFH in der Dosis von 3-mal 5.000 E bzw. 2-mal 7.500 E täglich subkutan; alternativ (nicht signifikant effektiver hinsichtlich symptomatischer venöser Thromboembolien, aber viel praktischer) NMH in höherer Dosis, d. h. >3.400 Anti-Faktor-Xa-Einheiten 1-mal täglich. Die Dosis aller NMH muss ggf. an die Nierenfunktion angepasst werden. Die Dauer der Heparinprophylaxe entspricht in der Regel der Dauer des stationären Aufenthalts, bei Patienten mit malignen Tumoren sollte sie bis zu 4 Wochen betragen (Bergqvist et al. 2002).
- **Multiple Risikofaktoren, Hüft- oder Knieendoprothesen:** NMH sollten in der Dosierung für Hochrisikopatienten (>3.400 E 1-mal täglich) für mindestens 10 Tage gegeben werden. Nach Operationen an der Hüfte ist sogar eine prophylaktische Antikoagulation über 28–35 Tage notwendig. Für orthopädische Eingriffe hat sich auch das Pentasaccharid Fondaparinux als sehr effektives Mittel der Thromboseprophylaxe erwiesen. Die tägliche Dosis beträgt 2,5 mg 1-mal täglich subkutan, die erste Injektion hat erst 6–8 h nach der Operation zu erfolgen. Bei Patienten mit einer Kreatinin-Clearance zwischen 20 und 30 ml/min sollte die Fondaparinuxdosis auf 1,5 mg 1-mal täglich reduziert werden, bei noch niedrigerer Clearance ist die Substanz kontraindiziert.

### Innere Medizin und Neurologie

Bis zu 70% aller symptomatischen venösen Thromboembolien und bis zu 80% aller tödlichen Lungenembolien werden in internistischen oder neurologischen Abteilungen registriert. Insgesamt treten Venenthrombosen bei 10–20% der hospitalisierten internistischen Patienten auf, während das Risiko bei Patienten mit Schlaganfällen bis zu 50% beträgt. Damit entspricht das Risiko internistischer Patienten im Allgemeinen jenem der Hochrisikogruppe in der Chirurgie (Leizorovicz u. Mismetti 2004).

Drei große kontrollierte Studien (Samama et al. 1999; Leizorovicz et al. 2004; Cohen et al. 2006) verglichen jeweils Enoxaparin, Dalteparin und Fondaparinux mit Placebo bei akut erkrankten internistischen Patienten. Dabei handelte es sich um Patienten mit akuter kardialer oder respiratorischer Insuffizienz, schweren Infektionen oder Exazerbation entzündlicher Erkrankungen. Die NMH konnten in allen Studien das Risiko proximaler Venenthrombosen, symptomatischer venöser Thromboembolien oder der Sterblichkeit an Lungenembolie um ca. 50% senken.

Eine vierte Studie bei Patienten mit Schlaganfall zeigte kürzlich, dass die Prophylaxe mittels Certoparin der Anwendung von UFH nicht unterlegen war (Diener et al. 2006). Auf der Basis dieser soliden Evidenz wird der prophylaktische Einsatz von NMH oder UFH bei akut erkrankten internistischen Patienten und mindestens einem Risikofaktor für bis zu 2 Wochen empfohlen (Geerts et al. 2004). Die Dosis entspricht jener, die für die Hochrisikogruppe chirurgischer Patienten empfohlen wird (siehe Übersicht).

Die Indikation zur Thromboseprophylaxe gilt auch für Patienten, die Thrombozytenaggregationshemmer erhalten. Die Kombination einer pharmakologischen Thromboseprophylaxe mit physikalischen Maßnahmen (Krankengymnastik, graduierte Kompressionsstrümpfe, Kreislauf- und Atemtherapie) erscheint schließlich sehr sinnvoll (Leizorovicz u. Mismetti 2004).

## Literatur

Agnelli G (2004) Prevention of venous thromboembolism in surgical patients. Circulation 110: IV4–12

Agnelli G, Prandoni P, Becattini C et al. (2003) Extended oral anticoagulant therapy after a first episode of pulmonary embolism. Ann Intern Med 139: 19–25

Bates SM, Greer IA, Hirsh J, Ginsberg JS (2004) Use of antithrombotic agents during pregnancy: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. Chest 126: 627S–44S

Becattini C, Vedovati MC, Agnelli G (2007) Prognostic value of troponins in acute pulmonary embolism: a meta-analysis. Circulation 116: 427–33

Bergqvist D, Agnelli G, Cohen AT et al. (2002) Duration of prophylaxis against venous thromboembolism with enoxaparin after surgery for cancer. N Engl J Med 346: 975–80

Binder L, Pieske B, Olschewski M et al. (2005) N-terminal pro-brain natriuretic peptide or troponin testing followed by echocardiography for risk stratification of acute pulmonary embolism. Circulation 112: 1573–9

Buller HR, Davidson BL, Decousus H et al. (2003) Subcutaneous fondaparinux versus intravenous unfractionated heparin in the initial treatment of pulmonary embolism. N Engl J Med 349: 1695–702

Cohen AT, Davidson BL, Gallus AS et al. (2006) Efficacy and safety of fondaparinux for the prevention of venous thromboembolism in older acute medical patients: randomised placebo controlled trial. BMJ 332: 325–9

Diener HC, Ringelstein EB, von Kummer R et al. (2006) Prophylaxis of thrombotic and embolic events in acute ischemic stroke with the low-molecular-weight heparin certoparin: results of the PROTECT Trial. Stroke 37: 139–44

Douketis JD, Gu CS, Schulman S, Ghirarduzzi A, Pengo V, Prandoni P (2007) The risk for fatal pulmonary embolism after discontinuing anticoagulant therapy for venous thromboembolism. Ann Intern Med 147: 766–74

Encke A, Haas S, Krauspe R et al. (2003) Stationäre und ambulante Thromboembolieprophylaxe in der Chirurgie und der perioperativen Medizin: Interdisziplinäre Leitlinie. Phlebologie 32: 164–9

Geerts WH, Pineo GF, Heit JA et al. (2004) Prevention of venous thromboembolism: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. Chest 126: 338S–400S

Hansson PO, Sorbo J, Eriksson H (2000) Recurrent venous thromboembolism after deep vein thrombosis: incidence and risk factors. Arch Intern Med 160: 769–74

Heit JA, Mohr DN, Silverstein MD, Petterson TM, O'Fallon WM, Melton LJ (2000) Predictors of recurrence after deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a population-based cohort study. Arch Intern Med 160: 761–8

Interdisziplinäre S2-Leitlinie (2005) Diagnostik und Therapie der Bein- und Beckenvenenthrombose und der Lungenembolie. Vasa 34: 15–24

Iorio A, Guercini F, Pini M (2003) Low-molecular-weight heparin for the long-term treatment of symptomatic venous thromboembolism: meta-analysis of the randomized comparisons with oral anticoagulants. J Thromb Haemost 1: 1906–13

Kearon C, Kahn SR, Agnelli G, Goldhaber S, Raskob GE, Comerota AJ (2008) Antithrombotic therapy for venous thromboembolic disease: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). Chest 133: 454S–545S

Konstantinides S (2008) Clinical practice. Acute pulmonary embolism. N Engl J Med 359: 2804–2813

Konstantinides S, Geibel A, Heusel G, Heinrich F, Kasper W (2002) Heparin plus alteplase compared with heparin alone in patients with submassive pulmonary embolism. N Engl J Med 347: 1143–50

Konstantinides S, Geibel A, Kasper W, Olschewski M, Blumel L, Just H (1998) Patent foramen ovale is an important predictor of adverse outcome in patients with major pulmonary embolism [see comments]. Circulation 97: 1946–51

Kucher N, Rossi E, De Rosa M, Goldhaber SZ (2005) Prognostic role of echocardiography among patients with acute pulmonary embolism and a systolic arterial pressure of 90 mm Hg or higher. Arch Intern Med 165: 1777–81

Le Gal G, Righini M, Roy PM, Sanchez O, Aujesky D, Bounameaux H, Perrier A (2006) Prediction of pulmonary embolism in the emergency department: the revised Geneva score. Ann Intern Med 144: 165–171

Leacche M, Unic D, Goldhaber SZ et al. (2005) Modern surgical treatment of massive pulmonary embolism: results in 47 consecutive patients after rapid diagnosis and aggressive surgical approach. J Thorac Cardiovasc Surg 129: 1018–23

Lee AY, Levine MN, Baker RI et al. (2003) Low-molecular-weight heparin versus a coumarin for the prevention of recurrent venous thromboembolism in patients with cancer. N Engl J Med 349: 146–53

Leizorovicz A, Cohen AT, Turpie AG, Olsson CG, Vaitkus PT, Goldhaber SZ (2004a) Randomized, placebo-controlled trial of dalteparin for the prevention of venous thromboembolism in acutely ill medical patients. Circulation 110: 874–9

Leizorovicz A, Mismetti P (2004b) Preventing venous thromboembolism in medical patients. Circulation 110: IV13–IV19

Linkins LA, Choi PT, Douketis JD (2003) Clinical impact of bleeding in patients taking oral anticoagulant therapy for venous thromboembolism: a meta-analysis. Ann Intern Med 139: 893–900

Palareti G, Cosmi B, Legnani C et al. (2006) D-dimer testing to determine the duration of anticoagulation therapy. N Engl J Med 355: 1780–9

Perrier A (2007) Contemporary diagnostic algorithm for the hemodynamically stable patient with suspected pulmonary embolism. In: Konstantinides SV, editor. Management of acute pulmonary embolism. Totowa: Humana Press, p 91–103

Perrier A, Roy PM, Sanchez O et al. (2005) Multidetector-row computed tomography in suspected pulmonary embolism. N Engl J Med 352: 1760–8

Prandoni P, Lensing AW, Cogo A et al. (1996) The long-term clinical course of acute deep venous thrombosis. Ann Intern Med 125: 1–7

Puls M, Dellas C, Lankeit M et al. (2007) Heart-type fatty acid-binding protein permits early risk stratification of pulmonary embolism. Eur Heart J 28: 224–9

Quinlan DJ, McQuillan A, Eikelboom JW (2004) Low-molecular-weight heparin compared with intravenous unfractionated heparin for treatment of pulmonary embolism: a meta-analysis of randomized, controlled trials. Ann Intern Med 140: 175–83

Raschke RA, Reilly BM, Guidry JR, Fontana JR, Srinivas S (1993) The weight-based heparin dosing nomogram compared with a »standard care« nomogram. A randomized controlled trial. Ann Intern Med 119: 874–81

Samama MM, Cohen AT, Darmon JY et al. (1999) A comparison of enoxaparin with placebo for the prevention of venous thromboembolism in acutely ill medical patients. Prophylaxis in Medical Patients with Enoxaparin Study Group. N Engl J Med 341: 793–800

Scridon T, Scridon C, Skali H, Alvarez A, Goldhaber SZ, Solomon SD (2005) Prognostic significance of troponin elevation and right ventricular enlargement in acute pulmonary embolism. Am J Cardiol 96: 303–5

Stein PD, Woodard PK, Weg JG et al. (2007) Diagnostic pathways in acute pulmonary embolism: recommendations of the PIOPED II Investigators. Radiology 242: 15–21

Stein PD, Fowler SE, Goodman LR et al. (2006) Multidetector computed tomography for acute pulmonary embolism. N Engl J Med 354: 2317–27

Torbicki A, Perrier A, Konstantinides SV et al. (2008) Guidelines on the diagnosis and management of acute pulmonary embolism: The Task Force for the Diagnosis and Management of Acute Pulmonary Embolism of the European Society of Cardiology (ESC). Eur Heart J 29: 2276–2315

Torbicki A, Galie N, Covezzoli A, Rossi E, De Rosa M, Goldhaber SZ (2003) Right heart thrombi in pulmonary embolism: results from the International Cooperative Pulmonary Embolism Registry. J Am Coll Cardiol 41: 2245–51

van Belle A, Buller HR, Huisman MV et al. (2006) Effectiveness of managing suspected pulmonary embolism using an algorithm combining clinical probability, D-dimer testing, and computed tomography. JAMA 295: 172–9

Wan S, Quinlan DJ, Agnelli G, Eikelboom JW (2004) Thrombolysis compared with heparin for the initial treatment of pulmonary embolism: a meta-analysis of the randomized controlled trials. Circulation 110: 744–9

Wells PS, Anderson DR, Rodger M et al. (2001) Excluding pulmonary embolism at the bedside without diagnostic imaging: management of patients with suspected pulmonary embolism presenting to the emergency department by using a simple clinical model and d-dimer. Ann Intern Med 135: 98–107

# 36 Thromboembolische Erkrankungen bei Neugeborenen und Kindern

*U. Nowak-Göttl, C. Bidlingmaier, K. Kurnik*

## Einleitung

Venöse Thrombosen sind seltene Erkrankungen im Kindesalter (0,07–0,14:10.000 Kinder), in den letzten Jahren werden sie jedoch zunehmend diagnostiziert. Betroffen sind überwiegend Neugeborene und Säuglinge. In den meisten Fällen treten sie sekundär im Rahmen von schweren Grunderkrankungen auf. Neben externen Triggern (wie z. B. zentralvenösen Kathetern) und erworbenen thrombophilen Risikofaktoren (wie z. B. Antiphospholipidantikörpern) werden angeborene thrombophile Risikofaktoren wie Antithrombin-, Protein-C- und Protein-S-Mangel, die Mutationen im Faktor-V-Gen oder im Prothrombingen und erhöhtes Lipoprotein a als zusätzliche Risikofaktoren angesehen.

Wegen der Seltenheit thromboembolischer Ereignisse bei Kindern existieren fast ausschließlich retrospektive oder kleine prospektive Studien. Soweit die Patienten nachbeobachtet wurden, wird von einem Rezidivrisiko von etwa 3% bei Neugeborenen und 8% bei älteren Kindern ausgegangen. Auch das Rezidivrisiko wird durch das Vorliegen angeborener thrombophiler Risikofaktoren beeinflusst.

Die Therapie von Thrombosen im Kindesalter kann sich auf keine großen, prospektiven, randomisierten Studien stützen, evidenzbasierte Empfehlungen fehlen völlig. Dennoch gibt es übliche Vorgehensweisen, die auf adaptierten Empfehlungen für Erwachsene beruhen oder als Ergebnis kleinerer Studien, als Erfahrungen aus einzelnen Fällen oder als Expertenmeinung publiziert wurden. Neben der in Einzelfällen notwendigen Thrombolyse gewinnen subkutan verabreichte niedermolekulare Heparine gegenüber intravenösen unfraktionierten Heparinen und oralen Vitamin-K-Antagonisten zunehmend an Bedeutung.

## 36.1 Einleitung

Thrombosen im Kindesalter sind seltene Ereignisse, die jedoch mit zunehmender Häufigkeit diagnostiziert werden [3, 32, 47, 48, 56, 65, 66, 74, 77, 90, 96]. Im Allgemeinen treten sie sekundär bei schweren Grunderkrankungen wie bei Sepsis, angeborenen Herzfehlern [79, 82], malignen Erkrankungen oder nach therapeutischen Interventionen, wie z. B. bei zentralvenösen Zugängen, auf (siehe Übersicht; [36, 70, 80]). Venöse Thrombosen bei Kindern stellen eine schwerwiegende Komplikation dar, Langzeitstudien zeigen trotz Therapie in 50% der Fälle keine Auflösung des Thrombus, dies führt bei bis zu einem Drittel der Patienten zur Ausbildung eines postthrombotischen Syndroms [32, 48, 56]. Lediglich für katheterassoziierte Thrombosen sind insbesondere bei onkologischen Patienten bessere therapeutische Erfolge beschrieben.

36

**Erworbene Risikofaktoren bei pädiatrischen Thrombosen**

- Perinatalzeit:
  - Asphyxie
  - Atemnotsyndrom
  - Neugeborene diabetischer Mütter
  - neonatale Infektionen
  - nekrotisierende Enterokolitis
  - Dehydratation
  - angeborenes nephrotisches Syndrom
  - Polyzythämie
- medizinische Interventionen:
  - zentrale Gefäßzugänge
  - Operationen
  - Nierentransplantation
  - Immobilisation
  - Gipse
  - extrakorporale Membranoxygenierung
- akute Erkrankungen:
  - Traumata
  - Sepsis
  - Dehydratation
  - akute rheumatische Erkrankungen
  - nephrotisches Syndrom
  - akute lymphatische Leukämien
- chronische Erkrankungen:
  - maligne Erkrankungen
  - renale Erkrankungen

▼

  - Herzfehler
  - chronische rheumatische Erkrankungen
  - chronisch entzündliche Darmerkrankungen
- Medikamente:
  - E.-coli-Asparaginase
  - Prednison
  - prokoagulatorische Gerinnungsfaktoren
  - Heparine bei heparininduzierter Thrombozytopenie (HIT)
  - antifibrinolytische Medikamente
  - orale Kontrazeptiva

Von allen Kindern haben Neugeborene das größte Risiko, eine Thrombose zu erleiden (5,1:100.000 Lebendgeborene pro Jahr bei kaukasischen Kindern), ein zweiter Altersgipfel liegt in der Pubertät (Abb. 36.1; [3, 74, 77, 96]). In prospektiven Registern in Nordamerika und Europa liegt die jährliche Inzidenz venöser thromboembolischer Ereignisse bei 0,07–0,14 von 10.000 Kindern, bei 5,3 von 10.000 stationär aufgenommenen Kindern und bei 24 von 10.000 Neugeborenen auf Neugeborenenintensivstationen [3, 65, 66, 77].

Wegen der Schwierigkeiten, bei Kindern klinische Studien mit hoher statistischer Aussagekraft durchzuführen, sind die Ergebnisse einzelner Studien zu angeborenen thrombophilen Risikofaktoren oder der Rezidivgefahr widersprüchlich oder nur wenig aussagekräftig. Neben erworbenen Risikofaktoren wie dem Antiphospholipidsyndrom [11, 61] konnten bei Erwachsenen angeborene thrombophile Risikofaktoren, insbesondere der Antithrombin-, Protein-C- oder Protein-S-Mangel, Mutationen im Faktor-V-Gen (G1691A), dem Prothrombingen (G20210A) und erhöhtes Lipoprotein a gezeigt werden [10, 25, 84, 87, 92, 94, 103, 104].

Bei Kindern wurden angeborene thrombophile Risikofaktoren als zusätzliche Risikofaktoren sowohl bei idiopathischer Thrombose [6, 12, 14, 15, 23, 27, 30, 41, 53, 55, 57, 58, 60, 97, 102, 107–110] als auch bei Thrombosen, die sekundär bei schweren Grunderkrankungen [7–9, 21, 29, 33] entstanden, beschrieben. Bisher wurden die meisten Studien bei Kindern entweder retrospektiv oder an kleinen prospektiven Patientengruppen durchgeführt. Einige Studien beinhalten eine Nachverfolgung der Patienten, und es wird ein Rezidivrisiko von etwa 3% bei Neugeborenen und 8% bei älteren Kindern diskutiert. Leider sind auch hier die Daten nicht immer vergleichbar, da die Dauer der Nachverfolgung stark schwankt [1, 32, 34, 48, 50, 51, 54, 56, 64, 66, 73, 90].

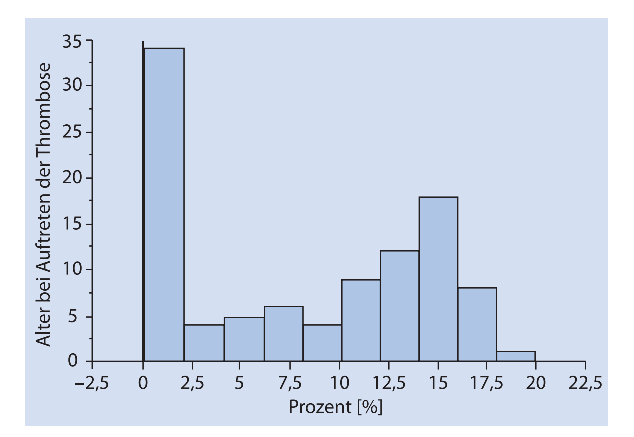



**Abb. 36.1.** Altersverteilung venöser thromboembolischer Ereignisse bei Kindern

## 36.2 Lokalisation von Thrombosen im Kindesalter

Bei Neugeborenen sind meist die Nierenvenen betroffen [3, 54, 64, 74, 78], zudem werden Vena-cava-Thrombosen [69] und peripartale arterielle Schlaganfälle beobachtet [66, 74, 77, 114]. In allen Altersgruppen kommt es häufig im Zusammenhang mit venösen zentralen Gefäßzugängen zu Thrombosen [18, 47, 66, 77, 88, 96, 116]. Diese Gefäßzugänge führen direkt zur Thrombenbildung oder zu Thrombuswachstum in der Nähe des Katheters, insbesondere wenn zusätzlich andere prothrombotische Risikofaktoren vorliegen.

Weitere Thrombosen im Kindesalter sind zerebrale Sinusvenenthrombosen [13, 43, 50, 51, 81, 113, 120], tiefe Beinvenenthrombosen [62], venöse Thrombosen der oberen Extremitäten [19] sowie Portal- und Mesenterialvenenthrombosen [28, 112]. Arterielle Thrombosen werden entweder als Schlaganfall oder als Femoral-, Subclavia- oder Aortathrombosen im Zusammenhang mit Katheterisierungen beschrieben [16, 17]. Lungenembolien wurden nach tiefen Beinvenenthrombosen, perioperativ oder bei Gefäßmalformationen beschrieben.

Die Purpura fulminans (▶ Kap. 37) ist eine akut lebensbedrohliche Erkrankung, histologisch charakterisiert durch dermale Mikrothrombosen gefolgt von perivaskulärer Blutung. Es kann auch zu hämorrhagischen Nekrosen der Nebennieren (eigentliches Waterhouse-Friderichsen-Syndrom) oder des Nierenkortex kommen. Klinisch imponieren progressive Hautblutungen (Purpura) und diffuse Blutungen aus Einstichstellen, bei angeborenem schwerem Protein-C-Mangel oder neonataler Sepsis schon Stunden nach Geburt. Die Läsionen sind initial rot und flach, indurieren dann rasch und werden nekrotisch, es kann zur Gangränbildung kommen.

Ursache ist eine disseminierte intravasale Gerinnung, z. B. bei Sepsis, insbesondere bei Infektionen mit β-hämolysierenden Streptokokken der Gruppe B, Neisseria meningitides oder Streptokokken. Zusätzlich wurden ein schwerer angeborener Protein-C- oder Protein-S-Mangel als ursächlich für die Purpura fulminans beschrieben.

## 36.3 Bildgebende Verfahren

Dopplersonographie, konventionelle Phlebo- und Angiographie, Computertomographie und Magnetresonanztomographie werden zur Diagnostik von Thrombosen im Kindesalter eingesetzt. Bei Thrombosen im oberen venösen System wird eine Kombination aus Phlebographie und Dopplersonographie als obligat angesehen [63]. Die Kernspintomographie kombiniert mit einer Kernspinangiographie sollte zur Diagnosesicherung eines ischämischen Hirninfarkts eingesetzt werden. Ventilations-Perfusions-Szintigraphie oder Kernspinangiographie sind sichere, strahlenarme Methoden zur Diagnostik einer Lungenembolie bei Kindern, bei Nichtverfügbarkeit eignet sich die Spiral-Computertomographie.

## 36.4 Einfluss prothrombotischer Risikofaktoren

Die Verteilung angeborener thrombophiler Risikofaktoren variiert in verschiedenen Ländern bei Patienten unterschiedlicher ethnischer Herkunft [22, 26]. Um den Einfluss angeborener Risikofaktoren auf das Thromboserisiko untersuchen zu können, sind Fallkontrollstudien erforderlich, die den ethnischen Hintergrund berücksichtigen. Die Daten aus verschiedenen Fallserien, Fallkontrollstudien und Kohortenstudien – in der Mehrzahl der Fälle bei weißen Kindern durchgeführt – sind in ◘ Tab. 36.1 und 36.2 zusammengefasst.

In einer Metaanalyse, die 56 Studien (2.560 Patienten) aus 15 Ländern einschließt, wiesen über 70% der Patienten wenigstens einen klinischen Risikofaktor auf [119]. Für Faktor-V-Mutationen (G1691A), Prothrombinmutationen (G20210A), Protein-C-, Protein-S- und Antithrombinmangel, erhöhtes Lipoprotein a und kombinierte Defekte zeigte sich ein klarer statistischer Zusammenhang zum Auftreten von Thrombosen auch ohne exogene Trigger. Zu Rezidiven bei venösen Thrombosen im Kindesalter sind Daten aus 11 Studien von 1.490 Patienten verfügbar (◘ Tab. 36.3).

Es zeigte sich ein statistisch signifikanter Zusammenhang mit dem Vorliegen eines Protein-S- oder Antithrombinmangels, der Prothrombinmutation und kombinierten Defekten. Hervorzuheben ist, dass der Anstieg des absoluten Risikos, ein Rezidiv nach Therapieende zu erleiden, durch das Vorliegen eines angeborenen Risikofaktors im Vergleich zu Patienten ohne Risikofaktor von 9,8% für Kinder mit heterozygoter Prothrombinmutation bis hin zu 26% und 29% für Kinder mit kombinierten Defekten oder Protein-S-Mangel schwankt.

## 36.5 Laborchemische Untersuchungen

Um Risikofaktoren und Ursachen thromboembolischer Ereignisse bei Kindern zu identifizieren, sind laborchemische Untersuchungen notwendig. Da insbesondere idiopathische Thrombosen und Rezidivthrombosen gehäuft bei

◘ **Tab. 36.1.** Inzidenzen von Protein-C-, Protein-S- und Antithrombinmangel bei Kindern mit venösen Thrombosen

| Patientenzahl | Anzahl Kontrollen | Antithrombinmangel (Patienten) | Antithrombinmangel (Kontrollen) | Protein-C-Mangel (Patienten) | Protein-C-Mangel (Kontrollen) | Protein-S-Mangel (Patienten) | Protein-S-Mangel (Kontrollen) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2560 | 2007 | 42/2101 (2,0%) | 3/1979 (0,15%) | 118/1851 (6,4%) | 19/1979 (0,96%) | 73/2203 (3,3%) | 9/1979 (0,45%) |

Ausgewertet wurden 40 Studien aus den Jahren 1995–2007. Die einzelnen Studien sind im Literaturverzeichnis angegeben.

◘ **Tab. 36.2.** Prävalenz von Faktor V G1691A, Prothrombin G20210A und 2 oder mehr genetischen Defekten bei Kindern mit symptomatischer venöser Thromboembolie

| Patientenzahl | Anzahl Kontrollen | Faktor V G1691A | | Prothrombin G20210A | | ≥2 Defekte | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Patienten | Kontrollen | Patienten | Kontrollen | Patienten | Kontrollen |
| 2548 | 2416 | 354/2228 (15,9%) | 148/1934 (7,7%) | 59/1603 (3,7%) | 29/1524 (1,9%) | 98/1669 (5,9%) | 10/1780 (0,56%) |

Ausgewertet wurden 39 Studien aus den Jahren 1996–2007. Die einzelnen Studien sind im Literaturverzeichnis angegeben.

**Tab. 36.3.** Prävalenz genetischer Defekte bei Kindern mit symptomatischer Rezidivthrombose und die Rezidivrate von betroffenen und nicht betroffenen Trägern sowie der Anstieg des absoluten Risikos einer Rezidivthrombose bei Trägern und Nicht-Trägern.

| | Patienten mit Rezidiv | Patienten ohne Rezidiv | Antithrombinmangel Patienten | Protein-C-Mangel Patienten | Protein-S-Mangel Patienten | FV G1691A Patienten | FII G20210A Patienten | > 2 genetische Defekte |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Summe (betroffene/nicht betroffene Träger) | 168 | 1.288 | 10/21 | 10/30 | 9/15 | 53/218 | 10/47 | 42/84 |
| Rezidvrate bei Trägern | 168 von 1.490 (11,3%) | | 10 von 31 (29%) | 10 von 40 (25,6%) | 9 von 24 (37,5%) | 53 von 271 (19,6%) | 10 von 57 (5,3%) | 42 von 126 (33,3%) |
| Anstieg des absoluten Risikos (Nicht-Träger vs. Träger [%], 95% CI) | | | 21 (11–31) | 18 (9–27) | 29 (18–40) | 20 (8–11,5) | 9,8 (2,4–17,2) | 26 (20–31) |

Ausgewertet wurden 11 Studien aus den Jahren 2001–2007. Die einzelnen Studien sind im Literaturverzeichnis angegeben.

Patienten mit mehr als einem angeborenen Risikofaktor vorkommen, ist es gerechtfertigt, eine ausführliche Diagnostik durchzuführen [73]. Passende proteinbasierende Tests sollten zusammen mit DNA-basierten Tests durchgeführt werden (siehe Übersicht).

### Angeborene thrombophile Risikofaktoren bei pädiatrischen Patienten

- Häufig:
  - Faktor-V-G1691A-Genmutation
  - Faktor-II-(Prothrombin-)G20210A-Genmutation
  - erhöhte Konzentration von Lipoprotein a
  - erhöhte Werte für FVIII
- selten:
  - Protein-C-Mangel
  - Protein-S-Mangel
  - Antithrombinmangel
  - Heparin-Kofaktor-II-Mangel
  - erhöhte Nüchtern-Homocysteinkonzentration >10 µmol/l
- sehr selten:
  - Dysfibrinogenämie
  - Plasminogenämie
  - homozygote Homocysteinurie
- Assoziation wird diskutiert:
  - erhöhte Spiegel von Faktor IX oder Fibrinogen
  - erniedrigte Spiegel von Faktor XII

Zusätzlich muss – insbesondere wenn die vorgenannten Untersuchungen ergebnislos bleiben – an seltenere prothrombotische Defekte gedacht werden, z. B. Dysfibrinogenämie, Dys- oder Hypoplasminogenämie, Heparin-Kofaktor-II-Mangel, erhöhtes histidinreiches Glykoprotein und andere genetische Polymorphismen. Abgesehen von den oben aufgeführten Testverfahren sollte bei allen Kindern mit Thrombosen nach Antiphospholipidantikörpern und Lupusantikoagulanzien gesucht werden.

Nach der Vererbungslehre von Mendel können 50% der Geschwister eines betroffenen Patienten mit Doppeldefekt zumindest einen Risikofaktor tragen, 25% mehr als einen. Aus diesem Grund und weil eine effektive antithrombotische Prophylaxe in Risikosituationen möglich ist, muss ein Screening bislang nicht betroffener Geschwister und erstgradiger Verwandter zumindest diskutiert und ggf. durchgeführt werden [24, 46, 91, 95].

Um zu vermeiden, dass die Ergebnisse proteinbasierter Tests durch die akute Thromboembolie verfälscht werden, sollten diese Untersuchungen 3–6 Monate nach der Thrombose durchgeführt werden. Zudem muss der Einfluss oraler Antikoagulanzien auf das Protein-C-System bedacht werden, die Tests sollten daher frühestens 30 Tage nach Absetzen der Medikation durchgeführt werden.

Genetische Untersuchungen hingegen werden weder durch die Akutphase noch durch Medikamente beeinflusst und können daher unmittelbar bei Auftreten der Thrombose durchgeführt werden. Da Lipoprotein a altersabhängig im ersten Lebensjahr steigt und nach 12 Monaten im Vergleich zu den Werten bei Geburt doppelt so hohe Werte gefunden werden, ist bei Neugeborenen eine erneute Untersuchung nach 8–12 Monaten notwendig, das gilt auch für die altersabhängigen Parameter Antithrombin, Protein C und Protein S [2, 4]. Wiederholte Messungen sind auch bei Patienten mit erhöhten Antiphospholipidantikörpern oder Lupusantikoagulanzien notwendig.

Für alle Untersuchungen aus Plasma gilt, dass eine Pathologie erst dann diagnostiziert werden sollte, wenn der Wert außerhalb des altersabhängigen Referenzbereichs liegt und wenn eine Bestätigung des Wertes 3–6 Monate nach der akuten Thrombose und nach Absetzen einer evtl. oralen Antikoagulation erfolgt ist.

**! Beweisend für die familiäre Belastung ist erst die Identifizierung einer zugrunde liegenden genetischen Mutation.**

## 36.6 Behandlungsmöglichkeiten akuter Thrombosen im Kindesalter

Ziel der Therapie bei Thrombosen ist eine Revaskularisierung des betroffenen Gefäßes, zumindest aber die Verhinderung eines weiteren Thrombuswachstums. Das Outcome der Kinder nach Thrombosen wird unterschiedlich beurteilt. Kontrollierte Studien zur Behandlung von Thrombosen im Kindesalter gibt es bisher nicht. Weltweit werden pädiatrische Patienten nach adaptierten Therapieempfehlungen für Erwachsene behandelt [67, 118]. Eine gesonderte Zulassung antithrombotischer Medikamente (Heparine, Vitamin-K-Antagonisten) für Kinder gibt es bisher nicht. Neben der Kompression durch elastische Binden (falls vorhanden passende Kompressionsstrümpfe) bei venösen Thrombosen der Extremitäten, muss die Therapie für jeden pädiatrischen Patienten nach Abwägung des individuellen Nutzens durchgeführt werden.

Bei allen eingesetzten Therapieformen in der Akutphase kann es zu ausgedehnten Blutungen und zum Abreißen des Primärthrombus kommen mit in der Folge auftretender Lungenembolie oder eines ischämischen Hirninfarkts beim Neugeborenen (offenes Foramen ovale). Sowohl für Fibrinolytika als auch für Heparin ist die Dosis bei Leber- und/oder Niereninsuffizienz zu reduzieren.

Bei vitaler Gefährdung oder drohendem Organverlust und bei jüngeren Kindern kann primär eine Fibrinolyse versucht werden. Auch für katheterassoziierte Verschlüsse ist eine Thrombolysetherapie beschrieben. Im Gegensatz hierzu ist bei älteren Kindern und Jugendlichen mit ausgeprägten Bein- und Beckenvenenthrombosen die therapeutische Heparinisierung in Anlehnung an die derzeit gängige Praxis bei Erwachsenen die Therapie der Wahl.

Neben allgemein physikalischen Maßnahmen wie das Tragen von Kompressionsstrümpfen werden in der medikamentösen Therapie unfraktioniertes Heparin, niedermolekulares Heparin (Tab. 36.4), Heparinoide und Thrombolytika eingesetzt.

Bei bekanntem Antithrombinmangel sollte, wenn verfügbar, Antithrombin substituiert werden. In Einzelfällen wurde zur Vermeidung von Lungenembolien die Implantation von Vena-cava-Schirmchen diskutiert.

Wie bei Erwachsenen sind auch bei Kindern heparininduzierte Thrombozytopenien vom Typ II mit einer sehr seltenen Inzidenz beschrieben worden. Sie erfordern einen sofortigen Wechsel der Antikoagulation und die Vermeidung jeglicher Heparingaben.



**Tab. 36.4.** Dosierung niedermolekularer Heparine im Kindesalter* [67]

| Wirkstoff | Alter bzw. Gewicht | Initiale Therapiedosis | Initiale prophylaktische Dosis |
|---|---|---|---|
| Enoxaparin | Alter <2 Monate | 1,5 mg/kgKG alle 12 h | 0,75 mg/kgKG alle 12 h |
| | Alter >2 Monate | 1,0 mg/kgKG alle 12 h | 0,5 mg/kgKG alle 12 h |
| Dalteparin | | 129±43 E/kgKG alle 24 h | 92±52 E/kgKG alle 24 h |
| Tinzaparin | 0–2 Monate | 275 E/kgKG | |
| | 2–12 Monate | 250 E/kgKG | |
| | 1–5 Jahre | 240 E/kgKG | |
| | 5–10 Jahre | 200 E/kgKG | |
| | 10–16 Jahre | 275 E/kgKG | |
| Reviparin | <5 kgKG | 150 E/kgKG alle 12 h | 50 E/kgKG alle 12 h |
| | >5 kgKG | 100 E/kgKG alle 12 h | 30 E/kgKG alle 12 h |

* Cave: Für niedermolekulare Heparine im Kindesalter gibt es – obgleich sie den Therapiestandard darstellen – keine größeren Studien und damit auch keine evidenzbasierten Empfehlungen. Wie viele Medikamente, die in der Pädiatrie eingesetzt werden, besitzen sie in der Regel keine Zulassung für den Einsatz bei Kindern. Ihr Einsatz ist daher als individueller Heilversuch zu sehen und sollte erst nach Aufklärung der Eltern und nach durch Unterschrift dokumentierter Zustimmung der Eltern erfolgen.

## 36.7 Sekundärprophylaxe und Dauer der Therapie

Erwachsene Patienten mit einer ersten Thrombose werden im Allgemeinen mit oralen Antikoagulanzien behandelt. Die Dauer der Behandlung beträgt:

- 3 Monate nach sekundären Thrombosen,
- 6–12 Monate bei idiopathischen Thrombosen,
- mindestens 6–12 Monate oder länger im Falle einer symptomatischen Lungenembolie.

Die Entscheidung, länger zu antikoagulieren, wird von individuellen Faktoren wie dem Rezidivrisiko oder von Blutungskomplikationen unter Therapie abhängig gemacht [20].

Zum Outcome von Thrombosen im Kindesalter liegen bislang nur wenige Berichte vor. Basierend auf den Daten einer aktuellen pädiatrischen Metaanalyse sollten Kinder mit Thrombosen ähnlich wie Erwachsene behandelt werden [119].

### 36.7.1 Venöse Thrombose

Im Allgemeinen sollte bei Vorliegen heterozygoter Einzeldefekte eine Antikoagulation mit niedermolekularen Heparinen für 3–6 Monate oder mit Vitamin-K-Antagonisten für 12–24 Monate nach akutem Ereignis angedacht werden. Neben der Kompressionsbehandlung bei Thrombosen der unteren Extremitäten bzw. bei Einschluss der Beckenvenen sind 3 Therapiemodalitäten zu diskutieren.

- **3 Monate:** Thrombus ist nicht mehr nachweisbar, exogener Risikofaktor nicht mehr vorhanden. Erneute Sekundärprophylaxe in Risikosituationen.
- **6–12 Monate:** weiterbestehender exogener Risikofaktor, kombinierte Hämostasedefekte. Erneute Sekundärprophylaxe in Risikosituationen.
- **Langzeitantikoagulation:** Die Dauer ist stets eine individuelle Entscheidung! Spontane Thrombose (ohne zugrunde liegendem exogenen Risikofaktor), lebensbedrohliches Thromboseereignis und Kinder mit homozygotem Protein-C-, Protein-S-, Antithrombinmangel, Antiphospholipidsyndrom sowie kombinierten Einzeldefekten.

### 36.7.2 Perioperative Thromboseprophylaxe

Für Kinder, die bereits eine Thrombose durchgemacht haben oder bei denen relevante thrombophile Risikofaktoren bekannt sind, sollte eine perioperative Thromboseprophylaxe diskutiert werden. Des Weiteren empfehlen einzelne chirurgische Leitlinien – angelehnt an die Empfehlungen für Erwachsene –, Kinder ab 12 Jahren, mit Beginn der Pubertät (Tanner II) oder ab einem Körpergewicht von 40–50 kg (bzw. einem Body-Mass-Index >25 kg/m$^2$) generell bei perioperativer Immobilisation prophylaktisch z. B. mit niedermolekularem Heparin zu behandeln. Dies gilt auch bei Immobilisation durch Hartverbände.

### 36.7.3 Arterielle Thrombosen

Bei arteriellen Thrombosen kann eine Sekundärprophylaxe mit Plättchenaggregationshemmern oder niedermolekularem Heparin diskutiert werden.

## Literatur

[1] Albisetti M, Moeller A, Waldvogel K et al. (2007) Congenital prothrombotic disorders in children with peripheral venous and arterial thromboses. Acta Haematol 117: 149–155

[2] Andrew M (1995) Developmental hemostasis: relevance to thromboembolic complications in pediatric patients. Thromb Haemost 74: 415–425

[3] Andrew M, David M, Adams M et al. (1994) Venous thromboembolic complications (VTE) in children: first analyses of the Canadian Registry of VTE. Blood 83: 1251–1257

[4] Andrew M, Paes B, Johnston M (1990) Development of the hemostatic system in the neonate and young infant. Am J Pediatr Hematol Oncol 12: 95–104

[5] Aschka I, Aumann V, Bergmann F et al. (1996) Prevalence of factor V Leiden in children with thromboembolism. Eur J Pediatr 155: 1009–1014

[6] Atasay B, Arsan S, Günlemez A, Kemhali S, Akar N (2003) Factor V Leiden and prothrombin gene 20210A variant in neonatal thromboembolism and in healthy neonates and adults: a study in a single center. Pediatr Hematol Oncol 20: 627–634

[7] Athale UH, Chan AK (2007) Thromboembolic complications in pediatric hematologic malignancies. Semin Thromb Hemost 33: 416–426

[8] Athale UH, Siciliano SA, Crowther M, Barr RD, Chan AK (2005) Thromboembolism in children with acute lymphoblastic leukaemia treated on Dana-Farber Cancer Institute protocols: effect of age and risk stratification of disease. Br J Haematol 129: 803–810

[9] Barker M, Thoenes D, Döhmen H, Friedrichs F, Pfannenstiel C, Heimann G (2005) Prevalence of thrombophilia and catheter-related thrombosis in cystic fibrosis. Pediatric Pulmonol 39: 156–161

[10] van den Belt AG, Sanson BJ, Simioni P et al. (1997) Recurrence of venous thromboembolism in patients with familial thrombophilia. Arch Intern Med 157: 2227–2232

[11] Berkun Y, Padeh S, Barash J et al. (2006) Antiphospholipid syndrome and recurrent thrombosis in children. Arthritis Rheum 55: 850–855

[12] Bombell T, Basic A, Fehr J (2002) Prevalences of hereditary thrombophilia in patients with thrombosis in different venous systems. Am J Hematol 70: 126–132

[13] Bonduel M, Hepner M, Sciuccati G et al. (2002) Factor V Leiden and prothrombin gene G20210A mutation in children with venous thromboembolism. Thromb Haemost 87: 972–977

[14] Bonduel M, Hepner M, Sciuccati G, Torres AF, Pieroni G, Frontroth JP (2000) Prothrombotic abnormalities in children with venous thromboembolism. J Pediatr Hematol Oncol 22: 66–672

[15] Bonduel M, Sciuccati G, Hepner M et al. (2003) Factor V Leiden and prothrombin gene G20210A mutation in children with cerebral thromboembolism. Am J Hematol 73: 81–86
[16] Bonduel M, Sciuccati G, Hepner M et al. (2006) Arterial ischemic stroke and cerebral venous thrombosis in children: a 12-year Argentinean registry. Acta Haematol 115: 180–185
[17] Bonduel M, Sciuccati G, Hepner M, Torres AF, Pieroni G, Frontroth JP (1999) Prethrombotic disorders in children with arterial ischemic stroke and sinovenous thrombosis. Arch Neurol 56: 967–971
[18] Boo NY, Wong NC, Zulkifli SS, Lye MS (1999) Risk factors associated with umbilical vascular catheter-associated thrombosis in newborn infants. J Pediatr Child Health 35: 460–465
[19] Brandão LR, Williams S, Kahr WH, Ryan C, Temple M, Chan AK (2006) Exercise-induced deep vein thrombosis of the upper extremity. 2. A case series in children. Acta Haematol 115: 214–220
[20] Büller H, Agnelli G, Hull RD, Hyres TM, Prins M, Raskob GE (2004) Antithrombotic therapy for venous thromboembolic disease. The seventh ACCP conference on antithrombotic and thrombolytic therapy. Chest 126: S401-S428
[21] Caruso V, Iacoviello L, Di Castelnuovo A et al. (2006) Thrombotic complications in childhood acute lymphoblastic leukemia: a meta-analysis of 17 prospective studies comprising 1752 pediatric patients. Blood 108: 2216–2222
[22] Conroy JM, Trivedi G, Sovd T, Caggana M (2000) The allele frequency of mutations in four genes that confer enhanced susceptibility to venous thromboembolism in an unselected group of New York State newborns. Thromb Res 99: 317–324
[23] Cumming AM, Keeney S, Salden A, Bhavnani M, Shwe KH, Hay CR (1997) The prothrombin gene G20210A variant: prevalence in a U.K. anticoagulant clinic population. Br J Haematol 98: 353–355
[24] Dietrich JE, Hertweck SP, Perlman SE (2007) Efficacy of familial history in determining thrombophilia risk. J Pediatr Adolesc Gynecol 20: 221–224
[25] Dilley A, Austin H, El-Jamil M et al. (2000) Genetic factors associated with thrombosis in pregnancy in a United States population. Am J Obstet Gynecol 183: 1271–1277
[26] Dilley A, Austin H, Hooper WC et al. (1998) Prevalence of the prothrombin 20210 G-to-A variant in blacks: infants, patients with venous thrombosis, patients with myocardial infarction, and control subjects. J Lab Clin Med 132: 452–455
[27] Ehrenforth S, Junker R, Koch HG et al. (1999) Multicentre evaluation of combined prothrombotic defects associated with thrombophilia in childhood. Childhood Thrombophilia Study Group. Eur J Pediatr 158: S97–S104
[28] El-Karaksy H, El-Koofy N, El-Hawary M et al. (2004) Prevalence of factor V Leiden mutation and other hereditary thrombophilic factors in Egyptian children with portal vein thrombosis: results of a single-center case-control study. Ann Hematol 83: 712–715
[29] Fabri D, Belangero VM, Annichino-Bizzacchi JM, Arruda VR (1998) Inherited risk factors for thrombophilia in children with nephrotic syndrome. Eur J Pediatr 157: 939–942
[30] Folsom AR, Cushman M, Tsai MY, Heckbert SR, Aleksic N (2002) Prospective study of the G20210A polymorphism in the prothrombin gene, plasma prothrombin concentration, and incidence of venous thromboembolism. Am J Hematol 71: 285–290
[31] Gentilomo C, Franzoi M, Laverda AM, Suppiej A, Battistella PA, Simioni P (2008) Cerebral sinovenous thrombosis in children: Thrombophilia and clinical outcome. Thromb Res 121(4): 589–91
[32] Goldenberg NA (2005) Long-term outcomes of venous thrombosis in children. Cur Opin Hematol 12: 370–376
[33] Goldenberg NA, Knapp-Clevenger R, Hays T, Manco-Johnson MJ (2005) Lemierre's and Lemierre's-Like Syndromes in Children: Survival and Thromboembolic Outcomes. Pediatrics 116: e543–e548
[34] Goldenberg NA, Knapp-Clevenger R, Manco-Johnson MJ, Mountain States Regional Thrombophilia Group (2004) Elevated plasma factor VIII and D-dimer levels as predictors of poor outcomes of thrombosis in children. New Engl J Med 351: 1081–1088
[35] González-Porras JR, García-Sanz R, Alberca I et al. (2006) Risk of recurrent venous thrombosis in patients with G20210A mutation in the prothrombin gene or factor V Leiden mutation. Blood Coagul Fibrinol 17: 23–28
[36] Günes AM, Baytan B, Günay U (2006) The influence of risk factors in promoting thrombosis during childhood: the role of acquired factors. Pediatr Hematol Oncol 23: 399–410
[37] Gupta PK, Ahmed RP, Bhattacharyya M et al. (2005) Protein C system defects in Indian children with thrombosis. Ann Hematol 84: 85–88
[38] Gürgey A, Balta G, Gumruk F, Altay C (2004) Analysis of some clinical and laboratory aspects of adolescent patients with thrombosis. Blood Coagul Fibrinol 15: 657–662
[39] Gürgey A, Mesci L, Renda Y, Olcay L, Kocak N, Erdem G (1996) Factor V Q 506 Mutation in children with thrombosis. Am J Hematol 53: 37–39
[40] Hagstrom JN, Walter J, Bluebond-Langner R, Amatniek JC, Manno CS, High KA (1998) Prevalence of the factor V Leiden mutation in children and neonates with thromboembolic disease. J Pediatr 133: 777–781
[41] Haywood S, Liesner R, Pindora S, Ganesan V (2005) Thrombophilia and first ischaemic stroke: a systematic review. Arch Dis Child 90: 402–405
[42] Heller C, Becker S, Scharrer I, Kreuz W (1999) Prothrombotic risk factors in childhood stroke and venous thrombosis. Eur J Pediatr 158: S117–S121
[43] Heller C, Heinecke A, Junker R et al. (2003) Cerebral venous thrombosis in children: a multifactorial origin. Circulation 108: 1362–1367
[44] Heller C, Schobess R, Kurnik K et al. (2000) Abdominal venous thrombosis in neonates and infants: role of prothrombotic risk factors – a multicentre case-control study. For the Childhood Thrombophilia Group. Br J Haematol 111: 534–539
[45] Ho WK, Hankey GJ, Quinlan DJ, Eikelboom JW (2006) Risk of recurrent venous thromboembolism in patients with common thrombophilia: a systematic review. Arch Intern Med 166: 729–736
[46] Johal SC, Garg BP, Heiny ME et al. (2006) Family history is a poor screen for prothrombotic genes in children with stroke. J Pediatr 148: 68–71
[47] Journeycake JM, Buchanan GR (2003) Thrombotic complications of central venous catheters in children. Cur Opin Hematol 10: 369–374
[48] Journeycake J, Eshelman D, Buchanan GR (2006) Post-thrombotic syndrome is uncommon in childhood cancer survivors. J Pediatr 148: 275–277
[49] Junker R, Koch HG, Auberger K, Münchow N, Ehrenforth S, Nowak-Göttl U (1999) Prothrombin G20210A gene mutation and further prothrombotic risk factors in childhood thrombophilia. Arterioscler Thromb Vasc Biol 19: 2568–2572
[50] Kenet G, Kirkham F, Niederstadt T et al. (2007) Risk factors for recurrent venous thromboembolism in the European collaborative paediatric database on cerebral venous thrombosis: a multicentre cohort study. Lancet Neurol 6: 595–603
[51] Kenet G, Waldman D, Lubetsky A et al. (2004) Paediatric cerebral sinus veil thrombosis. A multi-center, case-controlled study. Thromb Haemost 92: 713–718

[52] Knöfler R, Siegert E, Lauterbach I et al. (1999) Clinical importance of prothrombotic risk factors in pediatric patients with malignancy – impact of central venous lines. Eur J Pediatr 158: S147–S150
[53] Kosch A, Junker R, Kurnik K et al. (2000) Prothrombotic risk factors in children with spontaneous venous thrombosis and their asymptomatic parents: a family study. Thromb Res 99: 531–537
[54] Kosch A, Kuwertz-Bröking E, Heller C, Kurnik K, Schobess R, Nowak-Göttl U (2004) Renal venous thrombosis in neonates: prothrombotic risk factors and long-term follow-up. Blood 104: 1356–1360
[55] Kreuz W, Stoll M, Junker R et al. (2006) Familial elevated factor VIII in children with symptomatic venous thrombosis and post-thrombotic syndrome: results of a multicenter study. Arterioscler Thromb Vasc Biol 26: 1901–1906
[56] Kuhle S, Koloshuk B, Marzinotto V et al. (2003) A cross-sectional study evaluating post-thrombotic syndrome in children. Thromb Res 111: 227–233
[57] Kuhle S, Lane DA, Jochmanns K et al. (2001) Homozygous antithrombin deficiency type II (99 Leu to Phe mutation) and childhood thromboembolism. Thromb Haemost 86: 1007–1011
[58] Kuhle S, Massicotte P, Chan A et al. (2004) Systemic thromboembolism in children. Data from the 1-800-NO-CLOTS Consultation Service. Thromb Haemost 92: 722–728
[59] Lawson SE, Butler D, Enayat MS, Williams MD (1999) Congenital thrombophilia and thrombosis: a study in a single centre. Arch Dis Child 81: 176–178
[60] Lee ACW, Li CH, Szeto SC, Ma ES (2003) Symptomatic venous thromboembolism in Hong Kong Chinese children. Hong Kong Med J 9: 259–262
[61] Levy DM, Massicotte MP, Harvey E, Hebert D, Silverman ED (2003) Thromboembolism in paediatric lupus patients. Lupus 12: 741–746
[62] Levy ML, Granville RC, Hart D, Meltzer H (2004) Deep venous thrombosis in children and adolescents. J Neurosurg 101: 32–37
[63] Male C, Chait P, Andrew M et al. (2003) PARKAA Investigators. Central venous line related thrombosis in children: association with central venous line location and insertion technique. Blood 101: 4273–4278
[64] Marks SD, Massicotte P, Steele BT et al. (2005) Neonatal renal venous thrombosis: clinical outcomes and prevalence of prothrombotic disorders. J Pediatr 146: 811–816
[65] Massicotte MP, Dix D, Monagle P, Adams M, Andrew M (1998) Central venous catheter related thrombosis in children: analysis of the Canadian Registry of Venous Thromboembolic Complications. J Pediatr 133: 770–776
[66] Monagle P, Adams M, Mahoney M et al. (2000) Outcome of pediatric thromboembolic disease: a report from the Canadian Childhood Thrombophilia Registry. Pediatr Res 47: 763–766
[67] Monagle P, Chan A, Chalmers E, Michelson AD (2004) Antithrombotic therapy in children: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. Chest 126: S645–S687
[68] Morag I, Epelman M, Daneman A et al. (2006) Portal vein thrombosis in the neonate: risk factors, course, and outcome. J Pediatr 148: 735–739
[69] Münchow N, Kosch A, Schobess R, Junker R, Auberger K, Nowak-Göttl U (1999) Role of genetic prothrombotic risk factors in childhood caval vein thrombosis. Eur J Pediatr S109–S112
[70] Newall F, Wallace T, Crock C et al. (2006) Venous thromboembolic disease: a single –centre case series study. J Paediatr Child Health 42: 803–807
[71] Nowak-Göttl U, Dübbers A, Kececioglu D et al. (1997) Factor V Leiden, protein C, and Lipoprotein a in catheter-related thrombosis in childhood – a prospective study. J Pediatr 131: 608–612
[72] Nowak-Göttl U, Junker R, Hartmeier M et al. (1999) Increased lipoprotein(a) is an important risk factor for venous thromboembolism in Childhood. Circulation 100: 743–748
[73] Nowak-Göttl U, Junker R, Kreuz W et al. (2001) Childhood Thrombophilia Study Group. Risk of recurrent venous thrombosis in children with combined prothrombotic risk factors. Blood 97: 858–862
[74] Nowak-Göttl U, von Kries R, Göbel U (1997) Neonatal symptomatic thromboembolism in Germany: two year survey. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 76: F163-F167
[75] Nowak-Göttl U, Wermes C, Junker R et al. (1999) Prospective evaluation of the thrombotic risk in children with acute lymphoblastic leukemia carrying the MTHFR TT677 genotype, the prothrombin G20210A variant, and further prothrombotic risk factors. Blood 93: 1595–1599
[76] Nuss R, Hays T, Manco-Johnson M (1995) Childhood thrombosis. Pediatrics 96: 291–294
[77] Van Ommen CH, Heijboer H, Büller HR, Hirasing RA, Heijmans HS, Peters M (2001) Venous thromboembolism in childhood: a prospective two-year registry in The Netherlands. J Pediatr 139: 676–681
[78] Van Ommen CH, Heijboer H, van den Dool EJ, Hutten BA, Peters M (2003) Pediatric venous thromboembolic disease in one single center: congenital prothrombotic disorders and the clinical outcome. J Thromb Haemost 1: 2516–2522
[79] Van Ommen CH, Ottenkamp J, Lam J et al. (2002) The risk of postthrombotic syndrome in children with congenital heart disease. J Pediatr 141: 582–586
[80] Oren H, Devecioglu O, Ertem M et al. (2004) Analysis of pediatric thrombosis patients in Turkey. Pediatr Hematol Oncol 21: 573–583
[81] Ozyurek E, Balta G, Degerliyurt A, Parlak H, Aysun S, Gürgey A (2007) Significance of factor V, prothrombin, MTHFR, and PAI-1 genotypes in childhood cerebral thrombosis. Clin Appl Thromb Hemost 13: 154–160
[82] Petäjä J, Lundström U, Sairanen H, Marttinen E, Griffin JH (1996) Central venous thrombosis after cardiac operations in children. J Thorac Cardiovasc Surg 112: 883–889
[83] Pinto RB, Silveira TR, Bandinelli E, Röhsig L (2004) Portal vein thrombosis in children and adolescents: the low prevalence of hereditary thrombophilic disorders. J Pediatr Surg 39: 1356–1361
[84] Prandoni P, Noventa F, Ghirarduzzi A et al. (2007) The risk of recurrent venous thromboembolism after discontinuing anticoagulation in patients with acute proximal deep vein thrombosis or pulmonary embolism. A prospective cohort study in 1,626 patients. Haematologica 92: 199–205
[85] Raffini LJ, Raybagkar D, Blumenstein MS, Rubenstein RC, Manno CS (2006) Cystic fibrosis as a risk factor for recurrent venous thrombosis at a pediatric tertiary care hospital. J Pediatr 148: 659–664
[86] Rask O, Berntorp E, Ljung R (2005) Risk factors for venous thrombosis in Swedish children and adolescents. Acta Paediatr 94: 717–722
[87] Rees DC (1996) The population genetics of factor V Leiden (Arg 506 Gln). Br J Haematol 95: 579–586
[88] Revel-Vilk S (2006) Central venous line-related thrombosis in children. Acta Haematol 115: 201–206
[89] Revel-Vilk S, Chan A, Bauman M, Massicotte P (2003) Prothrombotic conditions in an unselected cohort of children with venous thromboembolic disease. J Thromb Haemost 1: 915–921
[90] Revel-Vilk S, Sharathkumar A, Massicotte P et al. (2004) Natural history of arterial and venous thrombosis in children treated with low molecular weight heparin: a longitudinal study by ultrasound. J Thromb Haemost 2: 42–46

[91] Ruud E, Holmström H, Brosstad F, Wesenberg F (2005) Diagnostic value of family histories of thrombosis to identify children with thrombophilia. Pediatr Hematol Oncol 22: 453–462
[92] Salomon O, Steinberg DM, Zivelin A et al. (1999) Single and combined prothrombotic factors in patients with idiopathic venous thromboembolism: prevalence and risk assessment. Arterioscler Thromb Vasc Biol 19: 511–518
[93] Salonvaara M, Riikonen P, Kekomäki R, Heinonen K (1999) Clinically symptomatic central venous catheter-related deep venous thrombosis in newborns. Acta Paediatr 88: 642–646
[94] Sanson BJ, Simioni P, Tormene D et al. (1999) The incidence of venous thromboembolism in asymptomatic carriers of a deficiency of antithrombin, protein C, or protein S: a prospective cohort study. Blood 94: 3702–3706
[95] Sass AE, Neufeld EJ (2002) Risk factors for thromboembolism teens: when should I test? Cur Opin Pediatr 14: 370–378
[96] Schmidt B, Andrew M (1995) Neonatal thrombosis: report of a prospective Canadian and international registry. Pediatrics 96: 939–943
[97] Schobess R, Junker R, Auberger K, Münchow N, Burdach S, Nowak-Göttl U (1999) Factor V G1691A and prothrombin G20210A in childhood spontaneous venous thrombosis – Evidence of an age-dependent thrombotic onset in carriers of the factor V G1691A and prothrombin G20210A mutation. Eur J Pediatr 158: S105-S108
[98] Sébire G, Tabarki B, Saunders DE et al. (2005) Cerebral venous sinus thrombosis in children: risk factors, presentation, diagnosis and outcome. Brain 128: 477–489
[99] Seixas CA, Hessel G, Ribeiro CC, Arruda VR, Annichino-Bizzacchi JM (1997) Factor V Leiden is not common in children with portal vein thrombosis. Thromb Haemost 77: 1297–1298
[100] Sifontes MT, Nuss R, Hunger SP, Waters J, Jacobsen LJ, Manco-Johnson M (1998) Activated protein C resistance and the factor V Leiden mutation in children with thrombosis. Am J Hematol 57: 29–32
[101] Sifontes MT, Nuss R, Hunger SP, Wilimas J, Jacobson LJ, Manco-Johnson MJ (1997) The factor V Leiden mutation in children with cancer and thrombosis. Br J Haematol 96: 484–489
[102] Sifontes MT, Nuss R, Jacobson LJ, Griffin JH, Manco-Johnson MJ (1996) Thrombosis in otherwise well children with the factor V Leiden mutation. J Pediatr 128: 324–328
[103] Simioni P, Sanson BJ, Prandoni P et al. (1999) Incidence of venous thromboembolism in families with inherited thrombophilia. Thromb Haemost 81: 198–202
[104] Sofi F, Marcucci R, Abbate R, Gensini GF, Prisco D (2007) Lipoprotein a and venous thromboembolism in adults: a meta-analysis. Am J Med 120: 728–733
[105] De Stefano V, Simioni P, Rossi E et al. (2006) The risk of recurrent venous thromboembolism in patients with inherited deficiency of natural anticoagulants antithrombin, protein C, and protein S. Haematologica 91: 695–698
[106] De Stefano V, Rossi E, Paciaroni K, Leone G (2002) Screening for inherited thrombophilia: indications and therapeutic implications. Haematologica 87: 1095–1108
[107] Tavil B, Ozyurek E, Gumruk F, Cetin M, Gurgey A (2007) Antiphospholipid antibodies in Turkish children with thrombosis. Blood Coagul Fibrinol 18: 347–352
[108] Tormene D, Gavasso S, Rossetto V, Simioni P (2006) Thrombosis and thrombophilia in children: a systematic review. Semin Thromb Hemost 32: 724–728
[109] Tormene D, Simioni S, Prandoni P et al. (2002) The incidence of venous thromboembolism in thrombophilic children: a prospective cohort study. Blood 100: 2403–2405
[110] Toumi NH, Khaldi F, Ben Becheur S et al. (1997) Thrombosis in congenital deficiencies of AT III, protein C or protein S: a study of 44 children. Hematol Cell Ther 39: 295–299
[111] Unal S, Varan A, Yalcin B, Büyükpamukcu M, Gürgey A (2005) Evaluation of thrombotic children with malignancy. Ann Hematol 84: 395–399
[112] Uttenreuther-Fischer MM, Vetter B, Hellmann C et al. (1997) Paediatric thrombo-embolism: the influence of non-genetic factors and the role of activated protein C resistance and protein C deficiency. Eur J Pediatr 156: 277–281
[113] De Veber G, Andrew M, Adams C et al. (2001) Cerebral sinovenous thrombosis in children. N Engl J Med 345: 417–423.
[114] deVeber G, Monagle P, Chan A et al. (1998) Prothrombotic disorders in infants and children with cerebral thromboembolism. Arch Neurol 55: 1539–1543
[115] Vielhaber H, Ehrenforth S, Koch HG, Scharrer I, van der Werf N, Nowak-Göttl U (1998) Cerebral venous thrombosis in infancy and childhood: role of genetic and acquired risk factors of thrombophilia. Eur J Pediatr 157: 555–560
[116] Vitiello R, McCrindle BW, Nykanen D, Freedom RM, Benson LN (1998) Complications associated with pediatric cardiac catheterization. J Am Coll Cardiol 32: 1433–1440
[117] Vossen CY, Walker ID, Svensson P et al. (2005) Recurrence rate after first venous thrombosis in patients with familial thrombophilia. Arterioscler Thromb Vasc Biol 25: 1992–1997
[118] Wiliams MD, Chalmers E, Gibson BES (2002) Guideline: The investigation and management of neonatal haemostasis and thrombosis. Br J Haematol 119: 295–309
[119] Young G, Albisetti M, Bonduel M et al. (2008) Impact of inherited thrombophilia on symptomatic venous thrombo-embolism (VTE) in children: A systematic review & meta-analysis of 56 studies including 3070 pediatric patients. Circulation 118(13): 1373–82
[120] Young G, Manco-Johnson M, Gill JC et al. (2003) Clinical manifestations of the prothrombin G20210A mutation in children: a pediatric coagulation consortium study. J Thromb Haemost 1: 958–962

# 32 Arterielle Thromboembolien

## 32.1 Risikofaktoren und Prophylaxe

### 32.1.1 Kardiovaskuläre Risikofaktoren

*H. F. Langer, M. Gawaz*



**Einleitung**

Der Begriff Atherothrombose beschreibt die Kombination aus akuten und chronischen Ereignissen in erkrankten arteriellen Gefäßen und stellt derzeit v. a. in den westlichen Ländern die hauptsächliche Ursache für Morbidität und Mortalität dar. Frühes Erkennen und Risikostratifizierung sind nach wie vor ein wichtiger Bestandteil der Prävention der Atherosklerose und ihrer Komplikationen. Neben klassischen Risikofaktoren sind in den letzten Jahren verschiedene Messparameter erarbeitet worden, die einen gesicherten oder möglichen prognostischen Faktor für Aspekte der Atherothrombose darstellen. Eine weitere wichtige Ursache für Thromboembolien im arteriellen System, v. a. bei jungen Patienten, stellt ein persistierendes Foramen ovale (PFO) dar, das zu einem Rechts-links-Shunt und damit zum Übertreten von thrombotischem Material in den aortalen Kreislauf führen kann.



#### Risikofaktoren

Die Manifestation einer atherosklerotischen Plaque ist eine Folge entzündlicher, immunologischer und proliferativer Prozesse, die durch Läsionen des Endothels induziert werden. Obwohl die Ursachen der primären Endothelläsion sehr unterschiedlich sein können, kommt es in der Folge über gleichartige pathophysiologische Vorgänge zur Ausbildung eines noch reversiblen »fatty streak«, der schließlich zu einer irreversiblen fibrösen Plaque führt. Die Ruptur einer solchen Plaque führt dann zu akuten Komplikationen wie der Entstehung eines Myokardinfarkts.

Die Aktivierung der Thrombozyten und des plasmatischen Gerinnungssystems mit Bildung von Fibrin wurde nach konventioneller Auffassung als weniger bedeutsam für die Entstehung der Atherosklerose gesehen. Neuere Untersuchungen konnten allerdings zeigen, dass diese Ansicht so nicht mehr aufrechterhalten werden kann, da Thrombozyten bereits für die Entstehung früher Läsionen, z. B. durch die Triggerung einer inflammatorischen Reaktion am Endothel, eine bedeutsame Rolle spielen (Gawaz et al. 2005; Ruggeri 2002).

#### Traditionelle Risikofaktoren

Die wichtigsten Risikofaktoren der Atherosklerose können durch die Erhebung einer einfachen Anamnese eruiert werden und stellen damit ein bedeutsames Mittel für die Stratifizierung des kardiovaskulären Risikos dar (Wilson et al. 1998). In einer aktuellen Studie mit 67.888 Patienten, die älter als 45 Jahre waren, konnte gezeigt werden, dass klassische Risikofaktoren weltweit konsistent und dennoch weitgehend untertherapiert sind (Bhatt et al. 2006). Patienten mit Atherothrombose zeigten einen hohen Anteil an:

- Bluthochdruck (81,8%),
- Hypercholesterinämie (72,4%),
- Diabetes (44,3%),
- Übergewicht (39,8%),
- Nikotinabusus (aktuell 15,3%, früher 41,6%).

Beim Übergewicht scheint v. a. der wirkliche Fettanteil eine Rolle zu spielen, da zum Beispiel die »waist to hip ratio« in einer Studie mit 27.000 Patienten weltweit ein stärkerer unabhängiger Risikofaktor war als der Body Mass Index (Yusuf et al. 2005).

#### Physikalische Marker

Ein abnormal hoher (>1,4) oder niedriger (<1,1) Knöchel-Arm-Index als Indikator für eine periphere arterielle Verschlusskrankheit hat sich als guter Prädiktor für zukünftige kardiovaskuläre Ereignisse herausgestellt (O'Hare 2006). Weiterhin hat die Bestimmung der Steifheit der arteriellen Gefäße eine prognostische Bedeutung (Mattace-Raso et al. 2006).

#### Biomarker

Die Bedeutung inflammatorischer Prozesse für die Atherothrombose ist durch die bisher größte Studie hervorgehoben worden, die die histologischen Charakteristika symptomatischer Plaques untersuchte (Redgrave et al. 2006). Hierbei zeigte eine Inflammation die stärkste Assoziation mit Plaqueinstabilität. Die Rolle des C-reaktiven Proteins (CRP) für die Atherosklerose ist weiterhin ein Ge-

genstand der Diskussion und nicht endgültig geklärt (Sanz et al. 2007).

Ein anderer Biomarker, der diesbezüglich untersucht wurde, ist das Adiponectin, das antiinflammatorische und antiatherogene Eigenschaften aufweist. Obwohl reduzierte Serumkonzentrationen von Adiponectin als starker Prädiktor für eine koronare Herzkrankheit propagiert wurden, zeigten eine große prospektive Studie und eine Metananalyse eine geringe nichtsignifikante Assoziation (Sattar et al. 2006).

Einen weiteren potenten Marker stellt das »brain natriuretic peptide« (BNP) dar. Patienten mit stabiler Angina pectoris und erhöhten Plasma-BNP-Werten zeigten ein erheblich erhöhtes kardiovaskuläres Risiko, unabhängig von klassischen Risikofaktoren, CRP und linksventrikulärer Herzpumpfunktion (Schnabel et al. 2006).

**! Ein bereits in der Klinik etablierter Marker für akute koronare Ereignisse ist das Troponin, das früh die Freisetzung von Proteinen aus Herzmuskelzellen anzeigt.**

Ein Marker, der inflammatorische und hämostaseologische Eigenschaften vereint, ist das Fibrinogen. Fibrinogen ist ebenso wie der Typ-1-Plasminogenaktivatorinhibitor (PAI-1) und der Von-Willebrand-Faktor (vWF) ein typischer Repräsentant der Akute-Phase-Proteine. Nicht überraschend ist angesichts der Multifunktionalität dieses Proteins in zellulären und humoralen Gerinnungsmechanismen, dass es in mehreren prospektiven Studien als unabhängiger Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen identifiziert wurde. Bei akutem Myokardinfarkt korrelierte der Fibrinogenspiegel positiv zum Stenosegrad, zum Ausmaß der koronaren Herzkrankheit und zur Schwere der klinischen Symptomatik. Retrospektive Daten zeigen auch bei zerebraler bzw. peripherer Arteriosklerose eine positive Korrelation zwischen dem Stenosegrad bzw. dem Ausmaß der Atherosklerose und dem Fibrinogenspiegel im Plasma. Auch PAI-1, die D-Dimere und die Faktor-VII-Aktivität (inverse Assoziation) zeigen eine unabhängige Assoziation mit der Inzidenz kardiovaskulärer Ereignisse (Smith et al. 2005).

Neuere Studien zeigen, dass die Expression von Aktivierungsmarkern auf Thrombozyten von prognostischer Bedeutung sein kann, z. B. bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom (Bigalke et al. 2006). Weiterhin wurde die thrombozytäre Genexpression von »myeloid-related protein 14«, einem Chemokin, das die Adhäsion von Leukozyten vermittelt, untersucht, wobei Patienten mit akutem Myokardinfarkt eine höhere plasmatische Konzentration aufwiesen als Patienten mit stabiler Atherosklerose. Dabei war der Serumwert als Prädiktor unabhängig von konventionellen Risikofaktoren und CRP (Healy et al. 2006).

Bei der endogenen Regeneration der Gefäße spielen zirkulierende endotheliale Progenitorzellen (EPC) eine Rolle. Ausgehend von dieser Tatsache konnte gezeigt werden, dass die Anzahl der zirkulierenden EPC die Inzidenz kardiovaskulärer Ereignisse vorhersagen kann (Werner et al. 2005). Aufgrund der Vielzahl der neuen Erkenntnisse, die in den letzten Jahren im Bereich der Atheroskleroseforschung erzielt werden konnten, ist auch eine Fülle an potenziellen Risikoindikatoren erarbeitet worden, die in Tab. 32.1 kurz skizziert werden.

### Klinische Bedeutung von Biomarkern versus traditionelle Risikofaktoren

In einer aktuellen großen Studie (ARIC=«atherosclerosis risk in communities«) wurde der praktische Nutzen der Bestimmung individueller Biomarker ermittelt, wobei 19 neuere Marker für Inflammation, Thrombogenität, oxidativen Stress, Endothelfunktion oder chronische Infektion bei 15.792 Individuen bestimmt wurden. Die Aussagekraft, das 5-Jahres-Risiko für eine koronare Herzkrankheit vorherzusagen, war im Vergleich zu konventionellen Risiko-

**Tab. 32.1.** Risikofaktoren der Atherosklerose

| Klassische Risikofaktoren | Weitere Faktoren |
|---|---|
| – Alter<br>– männliches Geschlecht<br>– genetische Disposition<br>– arterielle Hypertonie<br>– Nikotinabusus<br>– Diabetes mellitus<br>– Hypercholesterinämie<br>– Übergewicht, Stress<br>– mangelnde körperliche Aktivität | – **Dyslipidämie:** Hypertriglyzerinämie, erhöhtes LDL-Cholesterin, erniedrigtes HDL-Cholesterin, Lipoprotein a, Apolipoprotein $A_1$ und B, oxidiertes LDL<br>– **Hämostasemarker:** Fibrinogen, PAI-1, erhöhter FV, FVII, FVIII, D-Dimere, vWF, Prothrombinfragment 1 u. 2, »tissue plasminogen activator«<br>– **thrombozytäre Marker:** GP-VI-Expression, »myeloid-related protein 14«, P-Selektin, CD40L<br>– **inflammatorische Marker:** CRP, Interleukine, »vascular/cellular adhesion molecules«<br>– **Infektionen:** Zytomegalievirus, Chlamydia pneumoniae, Helicobacter pylori<br>– **genetische Marker:** Apolipoprotein-E-Genotyp, »angiotensin-converting enzyme«-Genotyp, PAI-1-Genotyp<br>– **Sonstige:** Homocystein, BNP, Insulinresistenz, Mikroalbuminurie, Kreatinin, Anzahl und Funktionalität zirkulierender EPC, Luftverschmutzung |

*BNP* »brain natriuretic peptide«; *LDL* »low density lipoprotein«; HDL »high density lipoprotein«; *vWF* Von-Willebrand-Faktor; *GP VI* Glykoprotein VI; *PAI-1* »plasminogen aktivator inhibitor-1«; *EPC* endotheliale Progenitorzellen

faktoren nicht signifikant oder nur marginal erhöht durch zusätzliche Biomarker, CRP eingeschlossen (Folsom et al. 2006). Ähnliche Ergebnisse zeigte eine weitere Studie (Blankenberg et al. 2006).

**Obwohl diese Ergebnisse nicht notwendigerweise den möglichen Nutzen von Biomarkern bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen infrage stellen, betonen sie dennoch die Bedeutung der klassischen und darüberhinaus beeinflussbaren Risikofaktoren.**

## Persistierendes Foramen ovale (PFO)

### Ätiologie

Ein offenes Foramen ovale wird mit einer Häufigkeit von 27% beobachtet und ist ein Relikt der fetalen Entwicklung. Es entsteht aus der fehlenden Fusion des Septum primum und secundum. Bei Persistieren der Öffnung kann es zum Übertreten von thrombotischem Material aus dem venösen in den arteriellen Körperkreislauf und damit zu Komplikationen wie einem Schlaganfall kommen.



### Klinik

Das PFO ist klinisch inapperent und wird erst durch das Auftreten einer Komplikation, am häufigsten einer paradoxen Embolie oder im Rahmen einer Bildgebung aus anderem Grund evident. Der Goldstandard in der Diagnose eines PFO ist die transösophageale Echokardiographie (TEE). Die Sensitivität der TEE sowie der transthorakalen Echokardiographie (TTE), die per se nicht sehr hoch ist, kann durch die Applikation von Kontrastmittel gesteigert werden. Im Falle eines Schlaganfalls bei PFO muss natürlich ein Screening bezüglich venöser Thrombosen erfolgen.

### Therapie

Die verfügbare Evidenz bezüglich der pharmakologischen Therapie (antithrombozytäre oder antikoagulatorische Therapie) und des mechanischen Therapieansatzes bei Patienten mit Schlaganfall, die ein PFO aufweisen, ist bisher nicht ausreichend (Kizer et al. 2005). In einer prospektiven Studie mit 140 Patienten, die medikamentös oder chirurgisch behandelt wurden, zeigte sich kein Unterschied zwischen den beiden Behandlungsformen (Bogousslavsky et al. 1996).

In mehreren Studien, in denen der Einfluss von Acetylsalicylsäure oder einer oralen Antikoagulation auf die Inzidenz eines erneuten Schlaganfalls untersucht wurde, schien die orale Antikoagulation in der Tendenz besser zu sein, allerdings waren diese Studien durch geringe Patientenzahlen oder Studienbias beeinträchtigt (Cujec et al. 1999, Homma et al. 2002, Kizer u. Devereux 2005, Orgera et al. 2001).

In einem systematischen Review, das 1.355 Patienten einschloss, die sich einem perkutanen Verschluss des PFO mittels Schirmchen unterzogen, zeigte sich bei 0–4,9% ein Reapoplex oder eine transitorische ischämiche Attacke (Khairy et al. 2003). Obwohl dies ein besseres klinisches Outcome im Vergleich zu den 895 medikamentös behandelten Patienten darstellte, war auch die Aussagekraft dieser Studie durch das nicht randomisierte Design, unterschiedliche Baseline-Charakteristika und inkonsistente Kriterien der Auswertung geschwächt (Kizer u. Devereux 2005). Aufgrund der aktuell unzureichenden klinischen Daten existieren noch keine Leitlinienempfehlungen.

**Jede Entscheidung zur Therapie bei Patienten mit PFO ist eine individuelle Entscheidung. Grundsätzlich ist ein Screening nach Thrombosen und angeborenen Gerinnungsabnormalitäten für eine Entscheidung hilfreich.**

Bei jungen Patienten ist tendenziell aufgrund des erhöhten Blutungsrisikos bei lebenslanger Antikoagulation ein mechanischer Verschluss oder eine alleinige Therapie mit Acetylsalicylsäure zu überlegen. Bei Patienten mit Thromboseanamnese, angeborenen Gerinnungsstörungen oder sonstigen zusätzlichen Risikofaktoren (atriales Septumaneurysma, großer Shunt) ist tendenziell eine orale Antikoagulation zu bevorzugen. Grundsätzlich muss die Therapie ausführlich mit allen mit ihr verbundenen Risiken genau mit dem Patienten besprochen und eine gemeinsame Entscheidung getroffen werden.

## Literatur


Bhatt DL, Steg PG, Ohman EM et al. (2006) International prevalence, recognition, and treatment of cardiovascular risk factors in outpatients with atherothrombosis. JAMA 295: 180–9.

Bigalke B, Lindemann S, Ehlers R et al. (2006) Expression of platelet collagen receptor glycoprotein VI is associated with acute coronary syndrome. Eur Heart J 27: 2165–9

Blankenberg S, McQueen MJ, Smieja M et al. (2006) Comparative impact of multiple biomarkers and N-Terminal pro-brain natriuretic peptide in the context of conventional risk factors for the prediction of recurrent cardiovascular events in the Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) Study. Circulation 114: 201–8

Bogousslavsky J, Garazi S, Jeanrenaud X et al. (1996) Stroke recurrence in patients with patent foramen ovale: the Lausanne Study. Lausanne Stroke with Paradoxal Embolism Study Group. Neurology 46: 1301–5

Cujec B, Mainra R, Johnson DH (1999) Prevention of recurrent cerebral ischemic events in patients with patent foramen ovale and cryptogenic strokes or transient ischemic attacks. Can J Cardiol 15: 57–64

Folsom AR, Chambless LE, Ballantyne CM et al. (2006) An assessment of incremental coronary risk prediction using C-reactive protein and other novel risk markers: the atherosclerosis risk in communities study. Arch Intern Med 166: 1368–73

Gawaz M, Langer H, May AE (2005) Platelets in inflammation and atherogenesis. J Clin Invest 115: 3378–84

Healy AM, Pickard MD, Pradhan AD et al. (2006) Platelet expression profiling and clinical validation of myeloid-related protein-14 as a novel determinant of cardiovascular events. Circulation 113: 2278–84

Homma S, Sacco RL, Di Tullio MR et al. (2002) Effect of medical treatment in stroke patients with patent foramen ovale: patent foramen ovale in Cryptogenic Stroke Study. Circulation 105: 2625–31

Khairy P, O'Donnell CP, Landzberg MJ (2003) Transcatheter closure versus medical therapy of patent foramen ovale and presumed paradoxical thromboemboli: a systematic review. Ann Intern Med 139: 753–60
Kizer JR, Devereux RB (2005) Clinical practice. Patent foramen ovale in young adults with unexplained stroke. N Engl J Med 353: 2361–72
Mattace-Raso FU, van der Cammen TJ, Hofman A et al. (2006) Arterial stiffness and risk of coronary heart disease and stroke: the Rotterdam Study. Circulation 113: 657–63
O'Hare AM, Katz R, Shlipak MG et al. (2006) Mortality and cardiovascular risk across the ankle-arm index spectrum: results from the Cardiovascular Health Study. Circulation 113: 388–93
Orgera MA, O'Malley PG, Taylor AJ (2001) Secondary prevention of cerebral ischemia in patent foramen ovale: systematic review and meta-analysis. South Med J 94: 699–703
Redgrave JN, Lovett JK, Gallagher PJ et al. (2006) Histological assessment of 526 symptomatic carotid plaques in relation to the nature and timing of ischemic symptoms: the Oxford plaque study. Circulation 113: 2320–8
Ruggeri ZM (2002) Platelets in atherothrombosis. Nat Med 8: 1227–34
Sanz J, Moreno PR, Fuster V (2007) The year in atherothrombosis. J Am Coll Cardiol 49: 1740–9
Sattar N, Wannamethee G, Sarwar N et al. (2006) Adiponectin and coronary heart disease: a prospective study and meta-analysis. Circulation 114: 623–9
Schnabel R, Lubos E, Rupprecht HJ et al. (2006) B-type natriuretic peptide and the risk of cardiovascular events and death in patients with stable angina: results from the AtheroGene study. J Am Coll Cardiol 47: 552–8
Smith A, Patterson C, Yarnell J et al. (2005) Which hemostatic markers add to the predictive value of conventional risk factors for coronary heart disease and ischemic stroke? The Caerphilly Study. Circulation 112: 3080–7
Werner N, Kosiol S, Schiegl T et al. (2005) Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes. N Engl J Med 353: 999–1007
Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D et al. (1998) Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. Circulation 97: 1837–47
Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S et al. (2005) Obesity and the risk of myocardial infarction in 27,000 participants from 52 countries: a case-control study. Lancet 366: 1640–9

## 32.1.2 Arterielle thrombophile Risikofaktoren

*R. B. Zotz*



### Einleitung

Risikofaktoren der Thrombophilie im arteriellen Gefäßsystem sind weniger klar charakterisiert als die klassischen Risikofaktoren der Atherosklerose oder die Risikofaktoren der Thrombophilie im venösen Gefäßsystem. Die Bewertung wird erschwert durch eine bisher unzureichende Trennung zwischen (a) proatherosklerotischen Effekten und prothrombogenen Effekten (z. B. thrombozytäre Rezeptorpolymorphismen) und (b) reaktiven Veränderungen eines Hämostaseparameters (z. B. PAI-1, Fibrinogen u. a.) als Ausdruck einer Akutphasenreaktion und primär hereditären Veränderungen derartiger Risikodeterminanten.

Die Studienlage zeigt für die Mehrzahl der potenziellen Risikofaktoren nur ein geringgradig erhöhtes relatives Risiko für ein arteriell ischämisches Ereignis und ist häufig auch inkonsistent. Dies schließt allerdings eine Bedeutung potenziell thrombophiler Risikodeterminanten für den arteriellen Gefäßverschluss nicht aus. Ursache hierfür könnte sein, dass konventionelle Fallkontrollstudien nicht in der Lage sind, Risikofaktoren der Thrombogenität im arteriellen System zu identifizieren, sofern es sich nicht gleichzeitig um einen Risikofaktor der Atherosklerose handelt.

#### Thrombophile Risikodeterminanten im arteriellen Gefäßsystem

Der arterielle Thrombus ist reich an Thrombozyten und entsteht in Gefäßregionen mit schnellem Blutfluss. Der venöse Thrombus setzt sich hauptsächlich aus Fibrin und Erythrozyten zusammen und wird eher in Gefäßregionen mit Blutstase gebildet. Die involvierten pathophysiologischen Mechanismen sind offensichtlich unterschiedlicher Natur, wobei die klassischen thrombophilen Risikofaktoren der venösen Thrombose für die arterielle Thrombose nur eine untergeordnete Rolle spielen.

Im Gegensatz zu den beachtlichen Fortschritten in der Identifizierung hereditärer thrombophiler Risikofaktoren der Venenthrombose sind die genetisch determinierten Risikofaktoren der arteriellen Thrombose weniger klar definiert (Tab. 32.2). Dieser Umstand ist auf den ersten Blick schwer verständlich, da das thrombotische Geschehen Bestandteil von Myokardinfarkt und Hirninfarkt ist

**Tab. 32.2.** Assoziation häufiger Polymorphismen der Hämostase mit arteriellen Thrombosen (Lane u. Grant 2000; Voetsch u. Loscalzo 2004)

| Polymorphismus | Intermediärer Phänotyp | Assoziation des Phänotyps mit Krankheit | Assoziation des Genotyps mit Krankheit |
|---|---|---|---|
| **Gerinnungsfaktoren** | | | |
| Fibrinogen-β-Kette –455G/A<br>Fibrinogen-β-Kette –854G/A<br>Fibrinogen-β-Kette –*Bc*/1 | Erhöhte Plasmafibrinogenspiegel | Nachgewiesen, möglicherweise nicht ursächlich | Uneinheitlich |
| Fibrinogen-α-Kette –Thr312Ala | Beeinflusst α-Kettenquerverbindung und Gerinnselstabilität | Möglich | Uneinheitlich |
| Faktor VII Arg353Gln<br>Faktor VII HVR4 | Erhöhte Plasma-FVII-Spiegel in vitro | Uneinheitlich | Uneinheitlich, möglicherweise nur bei ausgewählten Patienten |
| Faktor VII –401G/T, –402G/A | Beeinflusst Faktor-VII-Translation | Uneinheitlich | Unbekannt |
| Faktor V Leiden | Resistenz gegen aktiviertes Protein C | Uneinheitlich | Möglicherweise nur bei ausgewählten Patienten und in Kombination mit äußeren Einflüssen |
| Prothrombin 20210G/A | Erhöhte Plasmaprothrombinspiegel | Unbekannt | Möglicherweise nur bei ausgewählten Patienten und in Kombination mit äußeren Einflüssen |
| Faktor XIII Val34Leu | Vermehrte FXIII-Aktivierung durch Thrombin | Möglich | Uneinheitlicher schützender Effekt |
| **Fibrinolytisches System** | | | |
| PAI-1 –675 4G/5G | Erhöhte Plasma-PAI-1-Spiegel | Weitestgehend belegt | Uneinheitlich, möglicherweise nur in Kombination mit äußeren Einflüssen |
| PAI-1 $(CA)_n$ | Fraglich erhöhte Plasma-PAI-1-Spiegel | Möglich | Keine |
| PAI-1 *Hind*III | Fraglich erhöhte Plasma PAI-1-Spiegel | Möglich | Keine |
| t-PA Alu Insertion/Deletion, t-PA –735C/T | Erhöhte t-PA-Freisetzung | Paradox | Möglich |
| TAFI Ala147Thr | Erhöhte Plasma-TAFI-Antigen-Spiegel | Möglich | Uneinheitlich |
| TAFI 1542C/G | Erhöhte Plasma-TAFI-Antigenspiegel | Möglich | Unbekannt |

*PAI-1* Plasminogenaktivatorinhibitor-1; *t-PA* »tissue-type plasminogen activator«; *TAFI* thrombinaktivierbarer Fibrinolyseinhibitor

und die Inhibition der plasmatischen Hämostase das Infarktrisiko senkt, sodass z. B. Patienten mit Hämophilie A ebenfalls ein geringeres Infarktrisiko zeigen (Reitsma 2004).

Für die Einschätzung der Bedeutung thrombophiler Risikofaktoren der arteriellen Thrombose muss allerdings der im Vergleich zum venösen System weit komplexere Phänotyp Berücksichtigung finden. Im Prozess der arteriellen Thrombose interagieren thrombophile Risikofaktoren mit unterschiedlichen Schweregraden einer degenerativ-inflammatorischen Atherosklerose und, daran gekoppelt, einer sekundären Erhöhung von Akute-Phase-Proteinen wie Fibrinogen, Faktor VIII oder Von-Willebrand-Faktor. Bis heute erfolgt eine unzureichende Trennung zwischen (a) proatherosklerotischen Effekten und prothrombogenen Effekten (z. B. thrombozytäre Rezeptorpolymorphismen) und (b) reaktiven Veränderungen eines Hämostaseparameters (z. B. PAI-1, Fibrinogen u.a.)

als Ausdruck einer Akutphasenreaktion und primär hereditären Veränderungen derartiger Risikodeterminanten.

### Diskriminierung proatherosklerotischer von prothrombogenen Effekten

Die Studienlage zeigt für die Mehrzahl der potenziellen thrombogenen Risikofaktoren nur ein geringgradig erhöhtes relatives Risiko für ein arteriell ischämisches Ereignis und ist häufig auch inkonsistent. Ursache hierfür könnte sein, dass konventionelle Fallkontrollstudien nicht in der Lage sind, Risikofaktoren der Thrombogenität im arteriellen System zu identifizieren, sofern es sich nicht gleichzeitig um einen Risikofaktor der Atherosklerose handelt (siehe unten).

Kritisch ausgedrückt wäre sogar zu erwarten, dass ein Risikofaktor der Thrombogenität im Kontrollkollektiv in gleicher Häufigkeit vorliegt wie im Patientenkollektiv, da er seine negative Wirkung im Kontrollkollektiv mangels des Kofaktors Atherosklerose nicht ausüben kann. Damit ergibt sich für den thrombogenen Risikofaktor im Fallkontrolldesign kein erhöhtes Risiko. Der thrombogene Effekt der Risikodeterminante kann in dieser Konstellation nur durch den Nachweis eines vorzeitigen Ereignisses im Patientenkollektiv belegt werden (Zotz et al. 2005).

### Diskriminierung hereditär determinierter Effekte eines Hämostaseparameters von reaktiv-inflammatorischen Veränderungen

Der Nachweis erhöhter Hämostaseparameter wie Fibrinogen oder PAI-1 bei arteriell vaskulären Ereignissen erlaubt bisher keine kausale Zuordnung hinsichtlich einer primär hereditären Erhöhung oder einer sekundär reaktiven Erhöhung der Parameter im Rahmen des chronisch inflammatorischen atherosklerotischen Prozesses.

Zahlreiche Studien haben einen Zusammenhang zwischen Faktoren bzw. Polymorphismen der plasmatischen Hämostase und Fibrinolyse und dem Risiko für koronare Herzerkankung, Myokardinfarkt und Hirninfarkt untersucht. Die Ergebnisse sind insgesamt widersprüchlich (◘ Tab. 32.2). Erwartungsgemäß ist die Korrelation zwischen Genotyp (z. B. Fibrinogenpolymorphismus) und Erkrankung schwächer als zwischen Phänotyp (z. B. Fibrinogenspiegel) und Erkrankung, da der Genotyp in der Regel nur einen Prozentsatz der Varianz der Verteilung der Risikodeterminante bestimmt.

**! Konsistent reproduzierbare Daten liegen für erhöhte Fibrinogenspiegel und Fibrinogenpolymorphismen vor, die mit einem ca. 2- bis 2,5-fach erhöhten Risiko für arterielle Komplikationen einhergehen, wenn Fibrinogenspiegel in der obersten Quartile mit solchen in der untersten Quartile verglichen werden (Voetsch u. Loscalzo 2004).**

Fibrinogen ist, wie auch Faktor VIII und der Von-Willebrand-Faktor, ein Akute-Phase-Protein. Aus diesem Grund ist nicht sicher abschätzbar, ob eine Fibrinogenerhöhung primär vorhanden war oder ob es sich lediglich um ein Epiphänomen handelt im Rahmen der arteriosklerotisch-inflammatorischen Grunderkrankung (Ginsburg 2005; Reitsma 2004). Ein sekundärer Effekt ist insbesondere deswegen zu diskutieren, da die Varianz der Fibrinogenspiegel zu ca. 50% genetisch determiniert ist und trotz dieser Tatsache für verschiedene Fibrinogenpolymorphismen keine einheitliche Assoziation mit dem arteriellen Thromboserisiko nachweisbar ist (◘ Tab. 32.2).

Für veränderte Aktivitäten bzw. genetische Polymorphismen von Faktor VII, Faktor VIII, Von-Willebrand-Faktor, Faktor XIII, »tissue-type«-Plasminogenaktivator (t-PA) und thrombinaktivierbarer Fibrinolyseinhibitor (TAFI) ist die Datenlage noch widersprüchlicher. Konsistent reproduzierbare Ergebnisse ließen sich weder zwischen Faktorenaktivität (Phänotyp) und Erkrankung (Myokardinfarkt) noch zwischen Genotyp des Hämostasefaktors und Erkrankung erheben (◘ Tab. 32.2; Lane u. Grant 2000; Martinelli 2005; Voetsch u. Loscalzo 2004).

Für die Mangelzustände von Antithrombin, Protein C, Protein S und Protein Z liegen nur kleinere Fallserien oder Familienuntersuchungen mit uneinheitlichen Ergebnissen zum Risiko für arterielle Thrombosen vor (Green 2003). Eine klinische Relevanz der Mangelzustände wird für Patienten mit thrombotischen Ereignissen in jüngerem Alter diskutiert.

**! Eine Bedeutung von Faktor V G1691A (Faktor V Leiden) und Prothrombin G20210A für eine arterielle Thrombose konnte in der Mehrzahl der Studien nicht nachgewiesen werden (Mannucci et al. 2003).**

Studien mit positiver Assoziation dieser genetischen Varianten mit koronarer Herzerkrankung, Myokardinfarkt oder Hirninfarkt wurden in selektierten Patientengruppen oder unter dem Aspekt der Interaktion mit erworbenen Risikofaktoren durchgeführt (Voetsch u. Loscalzo 2004). So konnte bei jungen Frauen für den Faktor V Leiden ein 2,4-fach und für die Prothrombin-G20210A-Mutation ein 4-fach gesteigertes Myokardinfarktrisiko nachgewiesen werden.

Im Folgenden werden Risikodeterminanten der arteriellen Thrombophilie von besonderem Interesse behandelt.

### Plättchenpolymorphismen und thrombozytäre Hyperreagibilität

Thrombozyten nehmen eine zentrale Rolle in der Pathogenese akuter koronarer Syndrome ein. Im Bereich rupturierter arteriosklerotischer Plaques bilden sich Plättchenthromben und führen zu instabiler Angina und Myokardinfarkt (Libby u. Theroux 2005; Ross 1999; Zotz u. Scharf 2002). Die Pathogenese akuter koronarer Syndrome wird initiiert durch

eine arteriosklerotische Läsion gefolgt von einer plättchenabhängigen thrombotischen Okklusion.

Seit langem wird für die Genese arterieller Thrombosen eine thrombozytäre Hyperreagibilität diskutiert. Diese Annahme begründete sich im Nachweis von Aktivierungszeichen bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom, ischämischem Hirninfarkt, Diabetes mellitus, nephrotischem Syndrom, Migräne, Anorexia nervosa und Mitralklappenprolaps (Mammen 1999).

Die Einschätzung der klinischen Wertigkeit einer thrombozytären Hyperreagibilität blieb in der Vergangenheit dadurch erschwert, dass eine Differenzierung zwischen reaktiver, krankheitsbedingt vermehrter Aktivierbarkeit der Thrombozyten und primärer intrinsischer thrombozytärer Hyperreagibilität als Auslöser akuter vaskulärer Ereignisse nicht möglich war (Zotz u. Scharf 2002). Erst durch den Nachweis genetisch determinierter Polymorphismen thrombozytärer Glykoproteinrezeptoren als Ursache einer erhöhten Plättchenthrombogenität und dadurch bedingter akuter arterieller Gefäßverschlüsse konnten in den letzten Jahren Hinweise auf eine primäre thrombozytäre Hyperreagibilität gewonnen werden (Zotz u. Scharf 2002).



Hereditäre Polymorphismen in den kodierenden Genen thrombozytärer Membranglykoproteine (GP) können die Antigenität dieser GP ändern, ihren Expressionsgrad modifizieren oder regulieren und ihre funktionellen Eigenschaften beeinflussen. Die meisten Informationen klinischer und experimenteller Art liegen zu Polymorphismen der beiden essenziellen Plättchenrezeptoren $\alpha_{IIb}\beta_3$ (GP IIb-IIIa) und $\alpha_2\beta_1$ (GP Ia–IIa) vor. Diese Polymorphismen sollen im Hinblick auf ihre potenzielle klinische Relevanz bei kardiovaskulären Erkrankungen näher diskutiert werden.

### HPA-1-Polymorphismus von $\alpha_{IIb}\beta_3$ (GP IIb-IIIa): Charakterisierung und funktionelle Relevanz

Einer der essentiellen Plättchenrezeptoren ist das Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$, auch als Glykoprotein-IIb-IIIa-Komplex bekannt, das den Hauptrezeptor für die Plättchenaggregation repräsentiert und neben Membranglykoproteinen auch an der Plättchenadhäsion beteiligt ist. Der GP-IIb-IIIa-Komplex ist ein hoch polymorphes Antigen, welches das humane Plättchenantigen 1 (HPA-1) und andere definierte diallele Alloantigensysteme trägt. Der HPA-1-Polymorphismus entsteht durch eine singuläre Nukleotidsubstitution in Position 1565, Thymidin gegen Cytosin, die zu einem Aminosäureaustausch in der β-Untereinheit (GP IIIa) führt mit Leucin bei HPA-1a ($Pl^{A1}$) und Prolin bei HPA-1b ($Pl^{A2}$). Die Substitution von Leucin (HPA-1a) durch Prolin (HPA-1b) an Position 33 bedingt die Bildung mehrerer Neoepitope der β-Untereinheit. Darüber hinaus werden der Pro33-Leu-Substitution Veränderungen der Konformation und Funktion von $\alpha_{IIb}\beta_3$ zugeschrieben.

Durch den Polymorphismus bedingte funktionelle Veränderungen konnten in verschiedenen In-vitro-Untersuchungen nachgewiesen werden. In der größten Studie an über 1.400 Individuen konnte gezeigt werden, dass eine signifikant niedrigere Adrenalinschwellenkonzentration zur Induktion einer Thrombozytenaggregation bei HPA-1b-positiven Plättchen ausreichend war. Untersuchungen an kleineren Probandenkollektiven ergaben demgegenüber uneinheitliche Ergebnisse (Zotz u. Scharf 2002). Weiterhin konnte eine erhöhte Fibrinogenbindung an HPA-1b-positive Plättchen im Vergleich zu HPA-1b-negativen Thrombozyten gezeigt werden. In Übereinstimmung dazu wurde unter Verwendung stabiler HPA-1-exprimierender Zelllinien eine signifikant höhere Adhäsionsrate an immobilisiertes Fibrinogen nachgewiesen. Der HPA1-b-Genotyp zeigte außerdem Assoziationen mit einer erhöhten thrombozytären Ausbreitung, vermehrten Aktinpolymerisation auf Fibrinogen und einer gesteigerten Gerinnselretraktion. Diese Ergebnisse sprechen für ein effizienteres »outside-in signaling« in HPA-1b-positiven Plättchen bei Interaktion von $\alpha_{IIb}\beta_3$ mit thrombogenen Oberflächen. Ein weiterer Hinweis für eine funktionelle Differenz ist die erhöhte Sensitivität HPA-1b-positiver Thrombozyten gegenüber Inhibition durch Aspirin und Abciximab.

**! Zusammengefasst lassen die Ergebnisse zur phänotypischen Charakterisierung darauf schließen, dass der thrombozytäre HPA-1b-Genotyp mit einer gesteigerten Plättchenreagibilität assoziiert ist.**

### $\alpha_2$-C807T-(GP-Ia-)Polymorphismus von $\alpha_2\beta_1$ (GP Ia-IIa): Charakterisierung und funktionelle Relevanz

Zu den essenziellen thrombozytären Rezeptoren gehört weiterhin das Integrin $\alpha_2\beta_1$, auch bekannt als GP-Ia-IIa-Komplex. Dieses Integrin vermittelt neben GP VI die Thrombozytenadhäsion durch Bindung an Kollagen. $\alpha_2\beta_1$-induzierte Adhäsion von Plättchen an Kollagenfibrillen aktiviert Thrombozyten, führt zur Prothrombinkonversion an der Plättchenoberfläche und beschleunigt die $\alpha_{IIb}\beta_3$-abhängige Thrombusbildung.

Im Gegensatz zu anderen Integrinen variiert die Anzahl der $\alpha_2\beta_1$-Rezeptorkopien auf der Plättchenoberfläche 10-fach unter gesunden Individuen. Polymorphismen der DNA-Sequenz im $\alpha_2$-Gen sind assoziiert mit der Expressionsdichte von $\alpha_2\beta_1$ auf Thrombozyten. Die α-Untereinheit von $\alpha_2\beta_1$ trägt den stillen C807T-Polymorphismus, der an 7 andere Nukleotidpolymorphismen gekoppelt ist, wodurch drei $\alpha_2$-Allele resultieren: Allel 1 (807T/837T/873A/$Br^b$) ist mit erhöhter Rezeptordichte von $\alpha_2\beta_1$ assoziiert, Allel 2 (807C/837T/873G/$Br^b$) und Allel 3 (807C/837C/873G/$Br^a$) jeweils mit reduzierter Rezeptordichte.

### Klinische Bedeutung des HPA-1-Polymorphismus von $\alpha_{IIb}\beta_3$ (GP IIb-IIIa) und $\alpha_2$-C807T-(GP-Ia-)Polymorphismus von $\alpha_2\beta_1$ (GP Ia-IIa)

Klinische Studien zur Assoziation des HPA-1-(Pl$^A$-)Polymorphismus und des $\alpha_2$-C807T-Polymorphismus mit koronarer Herzerkrankung und Myokardinfarkt lieferten in der Vergangenheit vermeintlich widersprüchliche Ergebnisse. Eine Erklärung für diese vermeintlich kontroversen Befunde wurde erst kürzlich durch Untersuchungen geliefert, die – mittels epidemiologischer Verfahren – beide thrombozytären Rezeptorpolymorphismen als potenzielle Risikofaktoren einer gesteigerten Plättchenthrombogenität von klassischen Risikofaktoren der Atherosklerose diskriminiert haben.

Wegen der grundsätzlichen Bedeutung der epidemiologischen Methodik für alle potenziellen thrombogenen Risikofaktoren im arteriellen Gefäßsystem sollen die Charakteristika früherer und aktueller Studienergebnisse näher erläutert werden (für Details siehe Zotz u. Scharf 2002).

In konventionellen Fallkontrollstudien ergab sich keine signifikante Assoziation zwischen dem HPA-1-(Pl$^A$-)Polymorphismus und der koronaren Herzerkrankung. Demgegenüber konnte für das HPA-1b-Allel für jüngere Patienten eine Assoziation mit akuten koronaren Syndromen nachgewiesen werden. Diese Diskrepanz ließ eine gesteigerte Thrombogenität bei HPA-1b-positiven Individuen vermuten, ohne diese allerdings beweisen zu können. Tatsächlich fand sich keine Beziehung zwischen der koronaren Herzerkrankung (Atherosklerose) und HPA-1b. In einer Autopsiestudie konnte sogar ein geringerer Grad an Koronarstenose bei HPA-1b-positiven Individuen nachgewiesen werden – ein Befund, der allerdings eine vermehrte Thrombogenität vermuten ließ.

Demgegenüber zeigten Patienten mit Myokardinfarkt im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen entweder eine höhere Prävalenz von HPA-1b oder keine signifikante Differenz. In 2 Metaanalysen unter Einschluss von mehr als 10.000 Patienten und Kontrollpersonen konnte ein nur geringgradiger Risikoanstieg für einen Myokardinfarkt beim HPA-1b-Genotyp nachgewiesen werden. Bemerkenswerterweise konnte eine Zunahme des HPA-1b-assoziierten Risikos nachgewiesen werden, wenn die Analyse auf Patienten unter 60 Jahren limitiert wurde. Studien zum Einfluss des HPA-1-Polymorphismus auf die Rate an Re-Stenose und Myokardinfarkt nach koronarer Stentanlage oder nach koronarer Bypassoperation ergaben eine vermehrte Komplikationsrate bei Trägern des heterozygoten oder homozygoten HPA-1b-Genotyps (Zotz et al. 2000).

Ähnliche Ergebnisse wurden für den $\alpha_2$-C807T-Polymorphismus berichtet. In einer größeren Studie an über 2.200 Patienten konnte keine Assoziation mit einer koronaren Herzerkrankung oder dem Myokardinfarkt gezeigt werden. Allerdings fand sich in den Subgruppen von Patienten unter 62 Jahren und unter 49 Jahren ein erhöhtes Risiko für Träger des T-Allels. Auch für Patienten mit ischämischem Hirninfarkt mit einem Alter unter 50 Jahren zeigte sich das $\alpha_2$807T-Allel mit einem 3-fach erhöhten Risiko assoziiert, während kein erhöhtes Risiko bei älteren Patienten nachweisbar war.

Eine prospektive Kohortenstudie an 12.229 Frauen, die im Rahmen eines Mammakarzinom-Screeningprogramms beobachtet wurden, ergab ein signifikant höheres Risiko für letale kardiovaskuläre Ereignisse bei Trägerinnen des $\alpha_2$807TT-Genotyps im Vergleich zum $\alpha_2$807CC-Genotyp, wenn die Patientinnen Nikotin konsumiert hatten oder an zusätzlichen Erkrankungen wie Diabetes oder Hypertonie litten.

Obwohl das $\alpha_2$807T-Allel von $\alpha_2\beta_1$ mit kardiovaskulären Ereignissen assoziiert ist, zeigt sich keine Korrelation mit dem Vorliegen oder dem Schweregrad einer koronaren Herzerkrankung. Wie zuvor für den HPA-1b-Genotyp von $\alpha_{IIb}\beta_3$ diskutiert, scheint das $\alpha_2$807T-Allel mit einer gesteigerten Plättchenthrombogenität assoziiert zu sein, die bei Patienten mit bestehender koronarer Herzerkankung einen Myokardinfarkt auszulösen vermag. Dieses Konzept liefert eine Erklärung für die bisher widersprüchlichen Studienergebnisse und wird unterstützt durch die Kopplung des thrombogenen Effekts des thrombozytären Rezeptorpolymorphismus an konventionelle Risikofaktoren der Atherosklerose.

### Gesteigerte Plättchenthrombogenität des HPA-1-Polymorphismus von $\alpha_{IIb}\beta_3$ und des $\alpha_2$-C807T-Polymorphismus von $\alpha_2\beta_1$

Die Diskriminierung zwischen Risikofaktoren der Atherosklerose und Risikofaktoren der Thrombogenität im Koronargefäßsystem ist mit herkömmlichen Fallkontrollstudien nicht möglich. Dies hat folgenden Grund: Die Pathophysiologie des Myokardinfarkts umfasst beides, die Atherosklerose und thrombotische Okklusion. Prinzipiell sollte ein Fallkontrolldesign in der Lage sein, sowohl Risikofaktoren der Atherosklerose als auch der Thrombogenität zu identifizieren. Da jedoch ein Myokardinfarkt nur in seltenen Ausnahmefällen ohne atherosklerotische Läsionen auftritt, ist davon auszugehen, dass Risikodeterminanten der Plättchenthrombogenität in nicht atheromatösen Arterien ohne Effekt bleiben.

Der Vergleich von Patienten mit koronarer Atherosklerose und Kontrollpersonen ohne koronare Herzerkrankung wird dementsprechend nur Risikofaktoren der Atherosklerose und nicht solche der Thrombogenität identifizieren. Ein Risikofaktor der Thrombogenität sollte dementsprechend (a) in einer Fallkontrollstudie keine Assoziation mit der koronaren Herzerkrankung zeigen und (b) innerhalb der Patientengruppe mit Myokardinfarkt diesen in einem früheren Lebensalter auslösen im Vergleich zu Patienten ohne den Risikofaktor einer gesteigerten Thrombogenität.

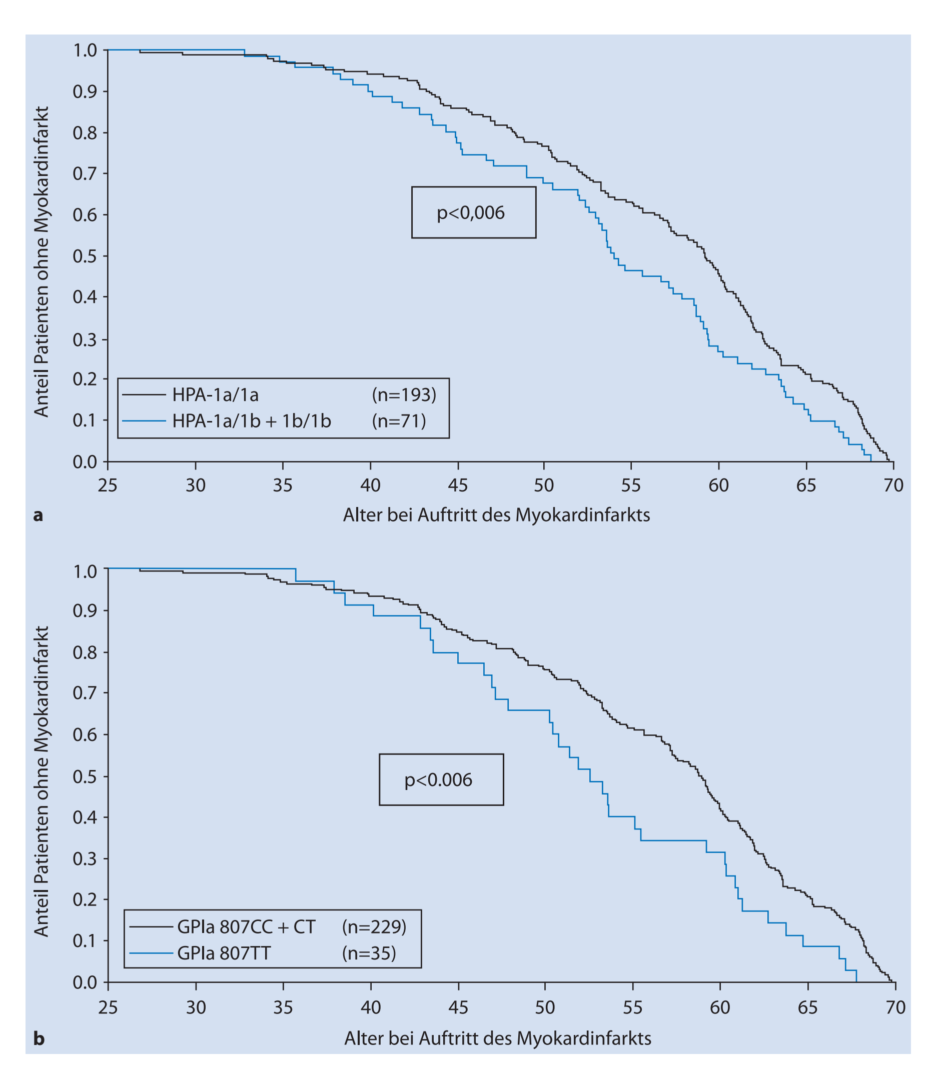



**Abb. 32.1.** Altersverteilung bei Auftreten des Myokardinfarkts. **a** Patienten mit HPA-1-(GP-IIIa-) Polymorphismus, **b** $\alpha_2$-C807T-(GP-Ia-) Polymorphismus. Die Abbildung zeigt den Anteil der Patienten ohne Myokardinfarkt in der Subgruppe der Patienten mit Auftreten des Myokardinfarkts innerhalb des letzten Jahres. Im Median trat der Myokardinfarkt bei HPA-1b-positiven Patienten mit 54,0 Jahren und bei HPA-1b-negativen Patienten mit 59,2 Jahren auf (p=0,006 Log-Rank-Test). Das Alter bei Auftreten des Myokardinfarkts lag bei Trägern des $\alpha_2$807TT-Genotyps bei 52,5 Jahren und bei Trägern des $\alpha_2$807CC oder $\alpha_2$807CT-Genotyps bei 58,8 Jahren (p=0,006 Log-Rank-Test).

Mit diesem Konzept konnte in aktuellen Untersuchungen zu beiden Rezeptorpolymorphismen eine gleiche Prävalenz in der Patienten- und Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Damit wird zugleich die fehlende Assoziation mit der koronaren Herzerkrankung dokumentiert (Zotz et al. 2005). Demgegenüber konnte nunmehr gezeigt werden, dass Träger des HPA-1b-Allels im Median ca. 5 Jahre früher einen Myokardinfarkt erleiden, Träger des $\alpha_2$807TT-Genotyps sogar ca. 6 Jahre früher (Abb. 32.1).

Damit ist klinisch-epidemiologisch erstmals belegt, dass beide Rezeptorpolymorphismen keine Risikofaktoren der Atherosklerose, sondern Risikofaktoren für arterielle Thrombosen sind. Um klinisch wirksam zu werden, benötigen diese thrombogenen Risikofaktoren das Vorhandensein atherosklerotischer Läsionen.

Das dargestellte Konzept erlaubt eine Erklärung für die widersprüchlichen Resultate in den verschiedenen klinischen Assoziationsstudien bezüglich des Einflusses des HPA-1b-Allels und des $\alpha_{2807}$TT-Genotyps auf Patienten mit koronarer Herzerkrankung. Vereinbar mit dieser Hypothese ist, dass selbst in prospektiven Studien wie der Physicians' Health Study der Effekt des Polymorphismus bei Kopplung an die Existenz einer koronaren Herzerkrankung nicht zu einer Differenz in der Prävalenz von HPA-1b zwischen der Patientengruppe mit Myokardinfarkt und der Kontrollgruppe führen dürfte, da die genetisch determinierte Rezeptorvariante nicht mit einer vermehrten Rate an

Myokardinfarkten, sondern aufgrund der Thrombogenität mit der Vorzeitigkeit der Manifestation des Myokardinfarkts assoziiert ist.

**! Zusammenfassend zeigen neuere Studien unter Verwendung spezieller epidemiologischer Methoden einen signifikanten Einfluss genetisch determinierter Plättchenvarianten auf das vorzeitige Auftreten eines Myokardinfarkts.**

Der Effekt auf die vorzeitige Manifestation des Infarkts ist stärker ausgeprägt als für konventionelle Risikofaktoren der Atherosklerose und übertrifft auch den durch Statine erzielbaren therapeutischen Nutzen. Durch eine Diskriminierung zwischen dem thrombogenen Effekt humoraler Komponenten und dem Einfluss atheroskleroseförderndern Faktoren sollte es in Zukunft möglich sein, die Wirkung von Komponenten der plasmatischen und thrombozytären Hämostase besser zu identifizieren und zu quantifizieren.

#### Plasminogenaktivatorinhibitor (PAI-1)

Eine funktionsfähige Fibrinolyse gewährleistet die Durchgängkeit der Gefäße. Plasmin ist das zentrale Enzym der Fibrinolyse und baut intravasal quervernetztes Fibrin ab. Im Gewebe wird extrazelluläre Matrix degradiert und die Zelladhäsion und Migration moduliert (Alessi u. Juhan-Vague 2006). Plasmin entsteht durch Aktivierung aus Plasminogen durch den »tissue-type«-Plasminogenaktivator (t-PA). Die Regulation der Fibrinolyse erfolgt über Plasminogenaktivatorinhibitor-1 (PAI-1), den wichtigsten Inhibitor von t-PA. PAI-1 wird aus Endothelzellen und α-Granula der Plättchen freigesetzt. Eine Induktion der PAI-1-Transkription erfolgt durch Insulin, Glukokortikoide, Angiotensin II, »very low-density lipoprotein« und Akute-Phase-Zytokine (Chen et al. 1998; Feinbloom u. Bauer 2005; Festa et al. 2002; Halleux et al. 1999; Healy u. Gelehrter 1994; Kohler u. Grant 2000; Vaughan et al. 1995).

Die Datenlage zur Bedeutung von PAI-1-Konzentrationen und PAI-1-Polymorphismen für arterielle Gefäßverschlüsse ist widersprüchlich. Verschiedene Studien konnten keine Assoziation zwischen PAI-1-Spiegeln und Myokardinfarkt oder ischämischem Hirninfarkt zeigen (Cushman et al. 1999; Johannssson et al. 2000; Mannucci et al. 2005; Wiman et al. 2000). In anderen Studien war eine Beziehung zwischen erhöhten PAI-1-Konzentrationen und arteriellen Gefäßverschlüssen nachweisbar, die allerdings in der multivariaten Analyse unter Hinzunahme von Faktoren der Insulinresistenz ihren prädiktiven Wert verloren (Alessi u. Juhan-Vague 2006; Ladenvall et al. 2002; Lundblad et al. 2005; Meltzer et al. 2007; Thogersen et al. 2004; Zorio 2003). Dies lässt vermuten, dass erhöhte PAI-1-Konzentrationen Bestandteil des metabolische Syndroms sind.

Das metabolische Syndrom ist mit einem gesteigerten Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen assoziiert und die Überexpression von PAI-1 könnte diesen Prozess verstärken. Die Mechanismen der Überexpression von PAI-1 bei Adipositas sind komplex. In-vivo- und In-vitro-Studien zeigen, dass PAI-1 neben seiner Rolle für die Atherothrombose in die Fettgewebsbildung und die Kontrolle des Insulin-Signaling in Adipozyten involviert ist (Alessi u. Juhan-Vague 2006). Synthetische Inhibitoren von PAI-1 steigern die Insulinsensitivität, reduzieren die Adipositas und könnten damit auch eine Bedeutung für die Therapie der Atherothrombose und Insulinresistenz erlangen (Alessi u. Juhan-Vague 2006).

In einer prospektiven Studie mit einer mittleren Verlaufsbeobachtung über 13 Jahre bei über 2.200 Individuen war eine erhöhte PAI-1-Aktivität mit einem ca. 50% höheren Risiko für koronare Herzerkrankung und ischämischen Hirninfarkt assoziiert (Smith et al. 2005). In dieser Studie war die PAI-1-Erhöhung auch in der multivariaten Analyse unter Einschluss konventioneller Risikodeterminanten ein unabhängiger Prädiktor. In einer weiteren prospektiven Studie konnte die PAI-1-Erhöhung ebenfalls als unabhängiger Prädiktor kardiovaskulärer Ereignisse identifiziert werden (Takazoe et al. 2001).

Im PAI-1-Gen ist ein Insertions-/Deletionspolymorphismus bekannt, der an Position -675 zu 5G- oder 4G-Allelen führt. Individuen mit einem homozygoten 4G-Genotyp zeigen eine um 25% höhere PAI-1-Plasmakonzentration als Individuen mit dem homozygoten 5G-Genotyp (Dawson et al. 1991; Eriksson 1995; Feinbloom u. Bauer 2005). Der Einfluss des 4G/5G-Polymorphismus auf das Risiko arterieller Ereignisse wurde in verschiedenen Studien untersucht. Zwei Metaanalysen unter Einschluss von 9 bzw. 37 Studien ergab ein um das 1,2-fache bzw. 1,06-fache signifikant gesteigertes Risiko kardiovaskulärer Ereignisse bei Trägern des 4G/4G-Genotyps im Vergleich zum 5G/5G-Genotyp (Iacoviello et al.1998).

In einer Subgruppenanalyse mit Diabetespatienten ergab sich ein 2,3-fach gesteigertes Risiko (4G/4G vs. 5G/5G) für ein Myokardinfarkt. Für den ischämischen Hirninfarkt ist die Datenlage besonders widersprüchlich. So wurde für das PAI-1-4G-Allel oder den 4G/4G-Genotyp sowohl ein erhöhtes als auch ein vermindertes Hirninfarktrisiko nachgewiesen.

Der protektive Effekt des 4G/4G-Genotyps in bestimmten Kollektiven ist nicht mit dem hemmenden Einfluss auf die Fibrinolyse erklärbar. Er könnte mit einem inhibitorischen Effekt von PAI-1 auf matrixdegradierende Enzyme im atherosklerotischen Plaque zusammenhängen (Heymans et al. 1999; Meltzer et al. 2007). Hohe PAI-1-Konzentrationen könnten auch durch Inhibition von t-PA protektiv sein, das nach ischämischem Hirninfarkt einen lokal schädigenden Einfluss im Gewebe haben könnte (Melchor u. Strickland 2005; Meltzer et al. 2007).

## Homocystein

Homocystein ist ein Intermediärprodukt des Methioninmetabolismus. Es kann entweder zu Methionin remethyliert werden durch die Methioninsynthase, einem Vitamin-$B_{12}$- und folatabhängigen Enzym, oder durch die Cystathioninsynthase, einem Vitamin-$B_6$-abhängigen Enzym, zu Cystein transsulfuriert werden (Feinbloom u. Bauer 2005).

Die sehr seltene kongenitale Homocysteinurie mit sehr hohen Homocysteinkonzentrationen (100–500 μmol/l) ist von der häufigen milden Hyperhomocysteinämie (in der Regel <50 μmol/l) abzugrenzen (Eldibany u. Caprini 2007). Die milde Hyperhomocysteinämie ist mit verschiedenen Polymorphismen assoziiert, von denen der C677T-Polymorphismus im MTHFR-Gen am besten charakterisiert ist (MTHFR=Methylentetrahydrofolatreduktase). Es finden sich niedrigere Homocysteinplasmakonzentrationen beim MTHFR-677CC-Genotyp, mittlere Konzentrationen beim MTHFR-677CT-Genotyp und höhere Konzentrationen beim MTHFR-677TT-Genotyp.

Die Beziehung zwischen den MTHFR-677-Genotypen und der Homocysteinkonzentration ist zwar statistisch gesichert, jedoch im Einzelfall nicht vorhersagbar, da aufgrund der großen Streubreite weite Überlappungen in den Homocysteinkonzentrationen der einzelnen Genotypen nachweisbar sind. Eine bessere Trennung der genotypabhängigen Homocysteinkonzentrationen ist unter niedrigen Folatkonzentrationen nachweisbar. Durch Folatgabe ist in vielen Fällen eine Normalisierung erhöhter Homocysteinspiegel erzielbar (Eldibany u. Caprini 2007).

Zahlreiche In-vivo- und In-vitro-Studien konnten Homocystein sowohl als thrombophile als auch atherogene Determinante belegen, die oxidativen Stress, Inflammation, Thrombose, endotheliale Dysfunktion und Zellproliferation fördert (Eldibany u. Caprini 2007; Loscalzo 2006; siehe Übersicht). Homocystein hat im Vergleich zu den klassischen Risikofaktoren der Atherosklerose eine besondere Stellung aufgrund der zusätzlichen eigenständigen prothrombophilen Effekte.



**Erkrankungen in Assoziation mit Hyperhomocysteinämie**
(Eldibany u. Caprini 2007)

- Atherosklerose (Verdickung der Intima-media der A. carotis)
- koronare Herzkrankheit
- zerebrovaskuläre Erkrankungen
- periphere arterielle Verschlusskrankheit
- venöse Thromboembolie
- Hämostaseveränderungen
  - Plättchendysfunktion: gesteigerte Thromboxan-$A_2$-Synthese
  - prokoagulatorische Aktivität: Erhöhung für Faktor VIII, Von-Willebrand-Faktor, Thrombin-Antithrombin-Komplex,
  - Prothrombinfragment 1 und 2
  - verminderte Antikoagulanzaktivität: Mangel an Antithrombin und Protein C

In einer Metaanalyse prospektiver klinischer Studien zu vaskulären Erstereignissen konnte gezeigt werden, dass eine Reduktion des Homocysteinspiegels um 25%, entsprechend 3 μmol/l, zu einem um 11% niedrigeren Risiko für ischämische Herzerkrankungen (Odd-Ratio 0,89; 95% Konfidenzintervall 0,83–0,96) und zu einem um 19% niedrigeren Risiko für ischämischen Hirninfarkt (Odd-Ratio 0,81; 95% Konfidenzintervall 0,69–0,95) führt (Clarke et al. 2002; Loscalzo 2006). Für rezidivierende Ereignisse konnte eine Risikosteigerung um 16% pro 5 μmol/l Anstieg in der Homocysteinserumkonzentration gezeigt werden (Wald et al. 2002).

Die nachgewiesene unabhängige Risikosteigerung für kardiovaskuläre Ereignisse durch eine milde Hyperhomocysteinämie und deren Assoziation mit Mangelzuständen an Folsäure und Vitamin $B_{12}$ bot ein geeignetes therapeutisches Ziel für präventive Maßnahmen. Prospektive Studien zum Effekt einer Homocystein reduzierenden Therapie mit unterschiedlichen Dosen an Folsäure, Vitamin $B_{12}$ und Vitamin $B_6$ ergaben zwar eine Reduktion der Homocysteinkonzentration, aber keine Reduktion der vaskulären Ereignisse (ischämischer Hirninfarkt oder Myokardinfarkt; Bonaa 2006; Lonn 2006; Loscalzo 2006; Toole 2004).

Eine Studie unter Einschluss von Patienten mit vorausgegangenem Myokardinfarkt zeigte einen Trend zu erhöhten Rezidivinfarkten unter Folsäure, Vitamin $B_{12}$ und $B_6$ im Vergleich zu Placebo (Bonaa et al. 2006). Demgegenüber wurde die Rate an ischämischen Hirninfarkten im Trend reduziert (Bonaa et al. 2006; Lonn et al. 2006).

Das Fehlen eines positiven therapeutischen Effekts auf klinische Endpunkte trotz nachweisbarer Reduktion der Homocysteinspiegel wirft 2 Fragen auf (Loscalzo 2006):

1. Ist die Homocysteinhypothese korrekt oder ist Homocystein nur ein Surrogatmarker für einen anderen metabolisch verwandten Risikofaktor?
2. Sofern Homocystein entsprechend den zahlreichen experimentellen und klinischen Studien ein atherogener Risikofaktor ist, lassen die Therapiestudien den Schluss zu, dass die Vitamintherapie einen eigenständigen negativen Einfluss hat?

So fördert Folsäure die Zellproliferation und könnte damit auch die atherosklerotische Plaqueproliferation fördern. Es wird in Zukunft zu klären sein, ob alternative Wege zur Reduktion der Homocysteinkonzentration, wie beispielsweise eine vermehrte renale Ausscheidung, bessere klinische Ergebnisse erzielen.

### Faktor XII

Die pathophysiologische Bewertung des Faktor-XII-Mangels hat in den letzten Jahren einen Wandel erfahren. Der Faktor XII, ein in vitro an der Gerinnungsinitiierung beteiligtes Enzym, wurde lange als verzichtbar für die Blutgerinnung angesehen, da auch komplette hereditäre Mangelzustände an Faktor XII nicht mit einer vermehrten Blutungsneigung einhergehen.

Neuere Studien zeigen jedoch, dass Mäuse ohne Faktor XII gegen arterielle Thrombosen und ischämische Hirninfarkte geschützt sind, da Bildung und Stabilisierung des Gerinnsels gestört ist (Colman 2006; Schousboe 2007). Damit ist die Faktor-XII-vermittelte Aktivierung von Faktor XI und die konsekutive Fibrinbildung entscheidend für eine pathologische arterielle Thrombusbildung, nicht jedoch für die Blutstillung.

Diese Eigenschaften könnten den Faktor XII zu einem einmaligen therapeutischen Ziel machen, um durch Blockade ein thromboembolisches Ereignis zu verhindern, ohne den Nebeneffekt einer vermehrten Blutung zu induzieren (Colman 2006; Gail u. Renne 2007). Aktuelle Studienergebnisse konnten zeigen, dass anorganische Polyphosphate aus aktivierten Plättchen die Hämostase nur in Anwesenheit von Faktor XII auslösen können. Aktivierte Plättchen sind damit der »lokalisierende« Faktor, der die Faktor-XII-vermittelte Gerinnselstabilisierung am Ort der Plättchenaktivierung ablaufen lässt (Smith et al. 2006).

Faktor XII hat neben Faktor XI als weiteres Substrat das Präkallikrein. Die Aktivierung von Präkallikrein verstärkt die Bildung des Vasodilatators Bradykinin, der in inflammatorische Prozesse und über HMW-Kininogen in die Regulation der Angiogenese involviert ist (HMW=»high molecular weight«). Schließlich bindet Faktor XII an die extrazelluläre Matrix, was von Relevanz für die Reparatur vaskulärer Schädigungen sein könnte. Vor dem Hintergrund dieser vielschichtigen Effekte von Faktor XII in der Thrombusbildung, Inflammation und Angiogenese wären für einen zukünftigen therapeutischen Einsatz einer Faktor-XII-Inhibition Strategien zu wählen, die spezifisch die plättcheninduzierte Aktivierung von Faktor XII hemmen (Schousboe 2007).

Die klinische Relevanz der Faktor-XII-Aktivität für arterielle oder venöse Thrombosen beim Menschen ist bis heute umstritten. Während anfangs eine Assoziation mit einer thrombophilen Diathese im arteriellen und venösen System angenommen wurde, die sich allerdings vorwiegend auf Fallberichte beschränkte, konnte dies in einer Reevaluation der Publikationen nicht bestätigt werden (Girolami et al. 2004). Auch 2 größere Fallkontrollstudien konnten keine Beziehung zwischen Faktor-XII-Mangel und klinischen Ergebnissen zeigen (Gailani u. Renne 2007; Koster et al. 1994; Zeerleder et al. 1999).

Andererseits konnten 3 weitere Studien eine Assoziation zwischen reduzierten Faktor-XII-Aktivitäten und vermehrten kardiovaskulären Ereignissen nachweisen (Endler et al. 2007; Govers-Riemslag et al. 2007; Salomon et al. 2003). Dieser negative Effekt war allerdings in der Gruppe mit ausgeprägtem Faktor-XII-Mangel (<10% Aktivität) nicht vorhanden (Endler et al. 2007). Auch erhöhte Faktor-XII-Aktivitäten konnten mit einem vermehrten kardiovaskulären Risiko assoziiert werden.

Zusammenfassend sind die klinischen Studienergebnisse zum Effekt des Faktor XII auf kardiovaskuläre Ereignisse uneinheitlich. Aufgrund der verschiedenen Einflüsse des Faktor XII für Thrombusbildung und -stabilität sowie Inflammation und Angiogenese sind differenzierte Effekte in unterschiedlichen Subgruppen denkbar.

### Antiphospholipidantikörper

Antiphospholipidantikörper sind Autoantikörper gegen phospholipidbindende Proteine. Der Nachweis persistierend positiver Antiphospholipidantikörper zusammen mit venösen oder arteriellen thromboembolischen Ereignissen oder Schwangerschaftskomplikationen definiert das Antiphospholipidantikörpersyndrom (Miyakis et al. 2006; ► Kap. 31.1.2). Bei einem primären Antiphospholipidsyndrom liegt keine weitere autoimmunologische Erkrankung vor, bei einem sekundären Antiphospholipidsyndrom ist die Erkrankung Ausdruck eines Lupus erythematodes oder eines anderen Autoimmunprozesses.

**! Diagnostisch relevante Antiphospholipidantikörper sind Antikardiolipinantikörper, Anti-$\beta_2$-Glykoprotein-I-Antikörper und das Lupusantikoagulans.**

Antiphospholipidantikörper sind sehr heterogen und gegen zahlreiche Antigene gerichtet (Giannakopoulos et al. 2007). Neben den oben genannten gehören hierzu auch Prothrombin, aktiviertes Protein C, Protein S, »tissue-type«-Plasminogenaktivator, Anexin V, Thrombomodulin, oxidiertes »low-density lipoprotein«, Faktor XII, »high-« und »low-molecular-weight kininogen«, Faktor VII/VIIa, Komplement H und C4b und der endotheliale Protein-C-Rezeptor (EPCR; Galli 2005).

Antiphospholipidantikörper aktivieren Endothelzellen, interferieren mit der physiologischen Antikoagulation, stören die Anexinbindung an anionische Phospholipide und interagieren mit der Fibrinolyse (De Groot u. Derksen 2005; Ortel 2005). Trotz neuer Erkenntnisse zur Pathophysiologie

beim Antiphospholipidsyndrom bleibt die klinische Signifikanz der einzelnen Mechanismen unklar.

Das Lupusantikoagulans ist ein Antikörper, der Phospholipidoberflächen blockiert und eine Verlängerung von phospholipidabhängigen Gerinnungszeiten, insbesondere der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (APTT) bewirkt. Trotz der verlängerten APTT zeigen Patienten mit Antiphospholipidantikörpern ein erhöhtes Thromboserisiko und keine Blutungsneigung. Der Nachweis eines Lupusantikoagulans ist ein Risikofaktor sowohl für venöse als auch arterielle Thrombosen, unabhängig vom Vorliegen eines Lupus erythematodes (Galli 2003; Ortel 2005).

Antikardiolipinantikörper und Anti-$\beta_2$-Glykoprotein-I-Antikörper werden mit ELISA-Techniken (enzyme-linked immunosorbent assay) nachgewiesen (▶ Kap. 69). Sie haben keinen Einfluss auf Gerinnungstests und zeigen im Vergleich zum Lupusantikoagulans einen geringeren prädiktiven Wert für das Thromboserisiko. In einer Metaanalyse konnte ein 11-fach erhöhtes Thromboserisiko für Patienten mit positivem Lupusantikoagulans und ein 1,6-fach erhöhtes Risiko für Patienten mit Antikardiolipinantikörpern nachgewiesen werden (Galli et al. 2003).

Auch Tiermodelle belegen überzeugend eine kausale Rolle von Antiphospholipidantikörpern für das erhöhte Risiko thromboembolischer Ereignisse und habitueller Aborte. Speziell die Injektion von Antikörpern mit Lupusantikoagulans-Eigenschaften steigert die Rate arterieller Thrombosen (Galli 2005).

Asymptomatische Individuen mit transient erhöhten Antiphospholipidantikörpern, z. B. postinfektiös, zeigen ein niedriges Thromboserisiko (Ortel 2005). Aufgrund der geringen Spezifität und fraglichen Relevanz niedrigtitriger Antikörper werden eindeutig erhöhte Kardiolipin- bzw. $\beta_2$-Glykoprotein-I-Antikörper vom IgG- oder IgM-Typ zur Diagnose eines Antiphospholipidsyndroms gefordert (>99%-Perzentile bzw. >40 GPL/MPL; GPL = IgG-Phospholipid-Units; MPL = IgM-Phospholipid-Units). Prothrombinantikörper sind nach bisherigem Kenntnisstand nicht mit einem erhöhten Thromboserisiko assoziiert (Galli 2003).

Die klinischen Manifestationen und das immunologische Muster des Antiphospholipidsyndroms wurde in einer Kohortenstudie mit 1.000 Patienten der Euro-Phospholipid Project Group prospektiv erfasst (Cervera et al. 2002). Ein primäres Antiphospholipidsyndrom war bei 53% der Patienten nachweisbar, eine Assoziation mit einem Lupus erythematodes in 36%, eine Assoziation mit einer »lupus-like disease« in 6% und eine Assoziation mit anderen Erkrankungen in 6%. Die tiefe Venenthrombose war mit 32% die häufigste thrombotische Manifestation, gefolgt vom Hirninfarkt (13%) und Myokardinfarkt (3%). Weitere zerebrovaskuläre ischämische Ereignisse wie transitorische ischämische Attacke (7%) oder Amaurosis fugax (3%) traten auf.

**! Thromboembolische Ereignisse gehören zu den häufigsten Todesursachen bei Patienten mit Lupus erythematodes (Cervera et al. 2003).**

Die Abschätzung des individuellen Thromboserisikos für Patienten mit Nachweis von Antiphospholipidantikörpern ist bei dem heterogenen Antikörperprofil und der wechselnden klinischen Relevanz des Antikörpernachweises im Einzelfall problematisch. Aufgrund der hohen Prävalenz der Antikörper von 1–5% bei gesunden Individuen (Levine et al. 2003), ist deren Wertigkeit ohne vorausgegangenes thromboembolisches Ereignis fraglich. Erst mit Auftreten eines thrombotischen Ereignisses ergibt sich aus dem Antikörpernachweis eine klinische Relevanz mit therapeutischer Konsequenz.

**! Für die venöse Thromboembolie ist bei Patienten mit Antiphospholipidsyndrom ein hohes Rezidivrisiko von 10–30% pro Jahr in verschiedenen Studien belegt.**

Im Gegensatz hierzu ist die Bedeutung von Antiphospholipidantikörpern für das Rezidivrisiko eines ischämischen Hirninfarkts weniger klar, da mehrere Studien widersprüchliche Ergebnisse zeigten. Bei genauerer Analyse dieser Studien sprechen Antiphospholipidantikörper nach Infarktereignissen jüngerer Patienten eher für eine Assoziation des Antikörpernachweises mit dem Hirninfarkt als bei älteren Patienten (Brey 2004). Offensichtlich sind bei älteren Patienten konventionelle Risikofaktoren des Hirninfarkts kausal in die Entstehung von Erst- und Rezidivereignis in größerem Umfang involviert. Dieses Phänomen zusammen mit einem Therapieeffekt könnte auch die Ursache für eine geringere Relevanz des Antikörpernachweises bei Rezidivinfarkten sein (Brey 2004).

## Literatur


Alessi MC, Juhan-Vague I (2006) PAI-1 and the metabolic syndrome – Links, causes, and consequences. Arterioscler Thromb Vascular Biol 26(10): 2200–7

Bonaa KH, Njolstad I, Ueland PM, Schirmer H, Tverdal A, Steigen T et al. (2006) Homocysteine lowering and cardiovascular events after acute myocardial infarction. N Eng J Med 354(15): 1578–88

Brey RL (2004) Management of the neurological manifestations of APS – what do the trials tell us? Thrombosis Research 114(5–6): 489–99

Cervera R, Khamashta MA, Font J, Sebastiani GD, Gil A, Lavilla P et al. (2003) Morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus during a 10-year period – A comparison of early and late manifestations in a cohort of 1,000 patients. Medicine 82(5): 299–308

Cervera R, Piette JC, Font J, Khamashta MA, Cervera R, Piette JC et al. (2002) Antiphospholipid syndrome – Clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. Arthritis and Rheumatism 46(4): 1019–27

Chen YQ, Su M, Walia RR, Hao Q, Covington JW, Vaughan DE (1998) Sp1 sites mediate activation of the plasminogen activator inhibitor-1 promoter by glucose in vascular smooth muscle cells. J Biol Chem 273(14): 8225–31

Clarke R, Collins R, Lewington S, Donald A, Alfthan G, Tuomilehto J et al. (2002) Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke – A meta-analysis. Jama 288(16): 2015–22

Colman RW (2006) Are hemostasis and thrombosis two sides of the same coin? J Exper Med 203(3): 493–5

Cushman M, Lemaitre RN, Kuller LH, Psaty BM, Macy EM, Sharrett AR et al. (1999) Fibrinolytic activation markers predict myocardial infarction in the elderly – The cardiovascular health study. Arterioscler Thromb Vascular Biol 19(3): 493–8

Dawson S, Hamsten A, Wiman B, Henney A, Humphries S (1991) Genetic-Variation at the Plasminogen-Activator Inhibitor-1 Locus Is Associated with Altered Levels of Plasma Plasminogen-Activator Inhibitor-1 Activity. Arteriosclerosis and Thrombosis 11(1): 183–90

De Groot PG, Derksen RHMW (2005) The antiphospholipid syndrome: clinical characteristics, laboratory features and pathogenesis. Current Opinion in Infectious Diseases 18(3): 205–10

Eldibany MM, Caprini JA (2007) Hyperhomocysteinemia and thrombosis – An overview. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 131(6): 872–84

Endler G, Marsik C, Jilma B, Schickbauer T, Quehenberger P, Mannhalter C (2007) Evidence of a U-shaped association between factor XII activity and overall survival. J Thrombosis Haemostasis 5(6): 1143–8

Eriksson P, Kallin B, Vanthooft FM, Bavenholm P, Hamsten A (1995) Allele-Specific Increase in Basal Transcription of the Plasminogen-Activator Inhibitor-1 Gene Is Associated with Myocardial-Infarction. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 14; 92(6): 1851–5

Feinbloom D, Bauer KA (2005) Assessment of hemostatic risk factors in predicting arterial thrombotic events. Arterioscler Thromb Vascular Biol 25(10): 2043–53

Festa A, D'Agostino R, Tracy RP, Haffner SM (2002) Elevated levels of acute-phase proteins and plasminogen activator inhibitor-1 predict the development of type 2 diabetes – The insulin resistance atherosclerosis study. Diabetes 51(4): 1131–7

Gailani D, Renne T (2007) Intrinsic pathway of coagulation and arterial thrombosis. Arterioscler Thromb Vascular Biol 27(12): 2507–13

Galli M (2003) Antiphospholipid syndrome: Association between laboratory tests and clinical practice. Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis 33(5–6): 249–55

Galli M (2005) Pathogenesis of antiphospholipid syndrome. Thrombosis Research 115: 103–7

Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T (2003) Lupus anticoagulants are stronger risk factors for thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: a systematic review of the literature. Blood 101(5): 1827–32

Giannakopoulos B, Passam F, Rahgozar S, Krilis SA (2007) Current concepts on the pathogenesis of the antiphospholipid syndrome. Blood 109(2): 422–30

Ginsburg D (2005) Genetic Risk Factors for Arterial Thrombosis and Inflammation. Hematology p 442–4

Girolami A, Randi ML, Gavasso S, Lombardi AM, Spiezia F (2004) The occasional venous thromboses seen in patients with severe (homozygous) FXII deficiency are probably due to associated risk factors: A study of prevalence in 21 patients and review of the literature. J Thrombosis Thrombolysis 17(2): 139–43

Govers-Riemslag JWP, Smid M, Cooper JA, Bauer KA, Rosenberg RD, Hack CE et al. (2007) The plasma kallikrein-kinin system and risk of cardiovascular disease in men. J Thrombosis Haemostasis 5(9): 1896–903

Green D (2003) Thrombophilia and Stroke. Topics in Stroke Rehabilitation 10(3): 21–33

Halleux CM, Declerck PJ, Tran SL, Detry R, Brichard SM (1999) Hormonal control of plasminogen activator inhibitor-1 gene expression and production in human adipose tissue: Stimulation by glucocorticoids and inhibition by catecholamines. J Clin Endocrinol Metabolism 84(11): 4097–105

Healy AM, Gelehrter TD (1994) Induction of Plasminogen-Activator Inhibitor-1 in Hepg2 Human Hepatoma-Cells by Mediators of the Acute-Phase Response. J Biol Chem 269(29): 19095–100

Heymans S, Luttun A, Nuyens D, Theilmeier G, Creemers E, Moons L et al. (1999) Inhibition of plasminogen activators or matrix metalloproteinases prevents cardiac rupture but impairs therapeutic angiogenesis and causes cardiac failure. Nature Medicine 5(10): 1135–42

Iacoviello L, Burzotta F, Di Castelnuovo A, Zito F, Marchioli R, Donati MB (1998). The 4G/5G polymorphism of PAI-1 promoter gene and the risk of myocardial infarction: A meta-analysis. Thrombosis and Haemostasis 80(6): 1029–30

Johansson L, Jansson JH, Boman K, Nilsson TK, Stegmayr B, Hallmans G (2000) Tissue plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor-1, and tissue plasminogen activator/plasminogen activator inhibitor-1 complex as risk factors for the development of a first stroke. Stroke 31(1): 26–32

Kohler HP, Grant PJ (2000) Mechanisms of disease: Plasminogen-activator inhibitor type 1 and coronary artery disease. N Eng J Med 342(24): 1792–801

Koster T, Rosendaal FR, Briet E, Vandenbroucke JP (1994) John Hageman's factor and deep-Vein thrombosis: Leiden Thrombophilia Study. Brit J Haematol 87(2): 422–4

Ladenvall P, Johansson L, Jansson JH, Jern S, Nilsson TK, Tjarnlund A et al. (2002) Tissue-type plasminogen activator-7,351 C/T enhancer polymorphism is associated with a first myocardial infarction. Thrombosis and Haemostasis 87(1): 105–9

Lane DA, Grant PJ (2000) Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and arterial thrombotic disease. Blood 95(5): 1517–32

Levine JS, Branch DW, Rauch J (2002) Medical progress: The antiphospholipid syndrome. N Eng J Med 346(10): 752–63

Libby P, Theroux P (2005) Pathophysiology of coronary artery disease. Circulation 111(25): 3481–8

Lonn E, Yusuf S, Arnold MJ, Sheridan P, Pogue J, Micks M et al. (2006) Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease. N Eng J Med 354(15): 1567–77

Loscalzo J (2006) Homocysteine trials – Clear outcomes for complex reasons. N Eng J Med 354(15): 1629–32

Lundblad D, Dinesen B, Rautio A, Roder ME, Eliasson M (2005) Low level of tissue plasminogen activator activity in non-diabetic patients with a first myocardial infarction. J Intern Med 258(1): 13–20

Mammen EF (1999) Sticky platelet syndrome. Seminars in Thrombosis and Hemostasis 25(4): 361–5

Mannucci PM, Bernardinelli L, Foco L, Galli M, Ribichini F, Tubaro M et al. (2005) Tissue plasminogen activator antigen is strongly associated with myocardial infarction in young women. J Thrombosis Haemostasis 3(2): 280–6

Mannucci PM, Merlini PA, Ardissino D, Barzuini C, Bernardi F, Bernardinelli L et al. (2003) No evidence of association between prothrombotic gene Polymorphisms and the development of acute myocardial infarction at a young age. Circulation 107(8): 1117–22

Martinelli I (2005) von Willebrand factor and factor VIII as risk factors for arterial and venous thrombosis. Seminars in Hematology 42(1): 49–55

Melchor JP, Strickland S (2005) Tissue plasminogen activator in central nervous system physiology and pathology. Thrombosis and Haemostasis 93(4): 655–60

Meltzer ME, Doggen CJM, De Groot PG, Rosendaal FR, Lisman T (2007) Fibrinolysis and the risk of venous and arterial thrombosis. Current Opinion in Hematology 14(3): 242–8

Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R et al. (2006) International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thrombosis Haemostasis 4(2): 295–306
Ortel TL (2005) Thrombosis and the Antiphospholipid Syndrome. Hematology p 462–8
Reitsma PH (2004) Is hypercoagulability an issue in arterial thrombosis? No. J Thrombosis Haemostasis 2(5): 692–4
Ross R (1999) Mechanisms of disease – Atherosclerosis – An inflammatory disease. N Eng J Med 340(2): 115–26
Salomon O, Steinberg DM, Dardik R, Rosenberg N, Zivelin A, Tamarin I et al. (2003) Inherited factor XI deficiency confers no protection against acute myocardial infarction. J Haemostasis 1(4): 658–61
Schousboe I (2008) Pharmacological regulation of factor XII activation may be a new target to control pathological coagulation. Biological Pharmacology 75(5): 1007–1013
Smith A, Patterson C, Yarnell J, Rumley A, Ben-Shlomo Y, Lowe G (2005) Which hemostatic markers add to the predictive value of conventional risk factors for coronary heart disease and ischemic stroke? The Caerphilly Study. Circulation 112(20): 3080–7
Smith SA, Mutch NJ, Baskar D, Rohlloff P, Docampo R, Morrissey JH (2006) Polyphosphate modulates blood coagulation and fibrinolysis. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 103(4): 903–8
Takazoe K, Ogawa H, Yasue H, Sakamoto T, Soejima H, Miyao Y et al. (2001) Increased plasminogen activator inhibitor activity and diabetes predict subsequent coronary events in patients with angina pectoris. Annals of Medicine 33(3): 206–12
Thogersen AM, Soderberg S, Jansson JH, Dahlen G, Boman K, Nilsson TK et al. (2004) Interactions between fibrinolysis, lipoproteins and leptin related to a first myocardial infarction. Europ J Cardiovasc Prevention Rehabil 11(1): 33–40
Toole JF, Malinow MR, Chambless LE, Spence JD, Pettigrew LC, Howard VJ et al. (2004) Lowering homocysteine in patients with ischemic stroke to prevent recurrent stroke, myocardial infarction, and death – The Vitamin Intervention for Stroke Prevention (VISP) randomized controlled trial. Jama 291(5): 565–75
Vaughan DE, Lazos SA, Tong K (1995) Angiotensin-Ii Regulates the Expression of Plasminogen-Activator Inhibitor-1 in Cultured Endothelial-Cells – A Potential Link Between the Renin-Angiotensin System and Thrombosis. J Clin Invest 95(3): 995–1001
Voetsch B, Loscalzo J (2004) Genetic determinants of arterial thrombosis. Arterioscler Thromb Vascular Biol 24(2): 216–29
Wald DS, Law M, Morris JK (2002) Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. Brit Med J 325(7374): 1202–1206K
Wiman B, Andersson T, Hallqvist J, Reuterwall C, Ahlbom A, deFaire U (2000) Plasma levels of tissue plasminogen activator/plasminogen activator inhibitor-1 complex and von willebrand factor are significant risk markers for recurrent myocardial infarction in the Stockholm Heart Epidemiology Program (SHEEP) study. Arterioscler Thromb Vascular Biol 20(8): 2019–23
Zeerleder S, Schloesser M, Redondo M, Wuillemin WA, Engel W, Furlan M et al. (1999) Reevaluation of the incidence of thromboembolic complications in congenital factor XII deficiency – A study on 73 subjects from 14 Swiss families. Thrombosis and Haemostasis 82(4): 1240–6
Zorio E, Castello R, Falco C, Espana F, Osa A, Almenar L et al. (2003) Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor in young patients with myocardial infarction and its relationship with the fibrinolytic function and the protein C system. Brit J Haematol 122(6): 958–65
Zotz RB, Klein M, Dauben HP, Moser C, Gams E, Scharf RE (2000) Prospective analysis after coronary-artery bypass grafting: platelet GP IIIa polymorphism (HPA-1b/PIA2) is a risk factor for bypass occlusion, myocardial infarction, and death. Thromb Haemost 83(3): 404–7
Zotz RB, Scharf RE (2002) Platelet Receptor Polymorphisms and their Role in Cardiovascular Disease. Laboratoriumsmedizin/J Lab Med 26(11–12): 584–93
Zotz RB, Winkelmann BR, Muller C, Boehm BO, Marz W, Scharf RE (2005) Association of polymorphisms of platelet membrane integrins alpha IIb beta 3 (HPA-1b/Pl(A2)) and alpha(2)beta(1) (alpha(2)807TT) with premature myocardial infarction. J Thrombosis Haemostasis 3(7): 1522–9

## 32.1.3 Prinzip der Primär- und Sekundärprophylaxe

*K. Schrör*



### Einleitung

Aufgabe einer medikamentösen Prophylaxe arterieller Thromboembolien ist die Verhinderung eines ersten (Primärprophylaxe) oder neuen (Sekundärprophylaxe) Gefäßverschlusses. Die häufigsten klinischen Manifestationen solcher Gefäßverschlüsse sind ein akutes Koronarsyndrom (ACS) (instabile Angina, Herzinfarkt, plötzlicher Herztod) oder transiente ischämische Attacken (TIA) bzw. (ischämischer) Schlaganfall. Ursache dieser Thrombosen ist in der Regel eine pathologische Plättchen/Gefäßwandinteraktion, z. B. in Form einer Plaqueruptur bei generalisierter Atherosklerose mit nachfolgender Bildung eines Plättchen-Fibrin-Thrombus. Die Verhinderung einer solchen Plättchenthrombusbildung ist Aufgabe einer antithrombozytären Prophylaxe und Therapie.

Orale Antikoagulanzien hemmen die Synthese plasmatischer Gerinnungsfaktoren, insbesondere von Thrombin, und hemmen darüber hinaus das Thrombuswachstum. Sie wirken daher synergistisch mit Antiplättchensubstanzen. Zu den Prinzipien der Primär- und Sekundärprophylaxe gehört auch die gezielte Behandlung von Risikofaktoren für arterielle Thromboembolien. Hierzu gehören Hypertonie, Diabetes oder Hypercholesterinämie. Für letzteres sind v. a. Statine geeignet. Entscheidend für die Auswahl und Anwendung von Pharmaka ist das individuelle Nutzen-Risiko-Profil, d.h. insbesondere das Risiko (schwerer) Blutungen. Eine Kombination unterschiedlich wirkender Arzneimittel lässt synergistische Effekte erwarten und ist vielfach sinnvoll.

### Antithrombozytäre Therapie

Die Bildung eines Plättchen-Fibrin-Thrombus ist das Schlüsselereignis einer arteriellen Thromboembolie. Grundlage einer antithrombozytären Therapie ist daher die Verhinderung einer »Explosion« der Plättchenaktivierung an einer lokalen Predelektionsstelle, v. a. wenn die Thrombozyten aufgrund einer Atherosklerose mit gestörter Endothelfunktion hyperreaktiv sind. Die Effektivität der Prophylaxe ist umso höher, je höher das vaskuläre Risiko ist (▣ Abb. 32.2).

#### Acetylsalicylsäure

Acetylsalicylsäure (ASS) ist der mit Abstand am besten untersuchte Wirkstoff und Referenzsubstanz sowie Plättchenfunktionshemmer der ersten Wahl. Mechanistisch verhindert ASS eine unkontrollierte »Explosion« der thrombozytären Thromboxansynthese als initialem Trigger der Plättchenaktivierung.

**Primärprophylaxe.** Die klinische Wirksamkeit von ASS in der Primärprophylaxe wurde erstmals in der US-amerikanischen Physicians' Health Study (PHS) für Männer und in der Women's Health Study (WHS) für Frauen gezeigt. Interessanterweise bestanden geschlechtsspezifische Unterschiede: bei Männern ergab sich eine signifikante Senkung des Herzinfarktrisikos, bei Frauen eine Senkung der ischämischen Schlaganfälle. Insgesamt ist eine etwa 15%ige Senkung des kardiovaskulären Risikos in der Primärprävention durch ASS zu erwarten. Diesen positiven Effekten stehen Nebenwirkungen gegenüber, insbesondere ein erhöhtes Blutungsrisiko.

Aktuelle Therapierichtlinien sehen dieses Risiko als akzeptabel an, wenn das (statistische) Risiko eines vaskulären Ereignisses ≥10% in 10 Jahren ist und keine Kontraindikation gegen die Anwendung von ASS besteht. Eine Dosis von ca. 100 mg ASS/Tag wird als ausreichend angesehen. Risikokalkulatoren und Tabellen sind verfügbar unter www.med.decisions.com oder www.absoluterisk.com. In jedem Fall sollte eine ASS-Prävention zusätzlich zur Behandlung kardiovaskulärer Risikofaktoren erfolgen, einschließlich diätetischer und Lebensstiländerungen, Beendigung des Rauchens und ggf. spezifischer Behandlung anderer Grunderkrankungen wie Diabetes, Hypercholesterolämie oder Hypertonie.

**Sekundärprophylaxe.** Die Erfolgsrate für ASS bei der Sekundärprävention von Patienten, die bereits ein vaskuläres Ereignis erlitten hatten, beträgt etwa 25%. Allerdings bestehen erhebliche krankheitsbezogene Unterschiede zwischen verschiedenen Patientengruppen (0–50% Protektion) (▣ Abb. 32.3; Patrono et al. 2001, Antithrombotic Trialists' Collaboration 2002).

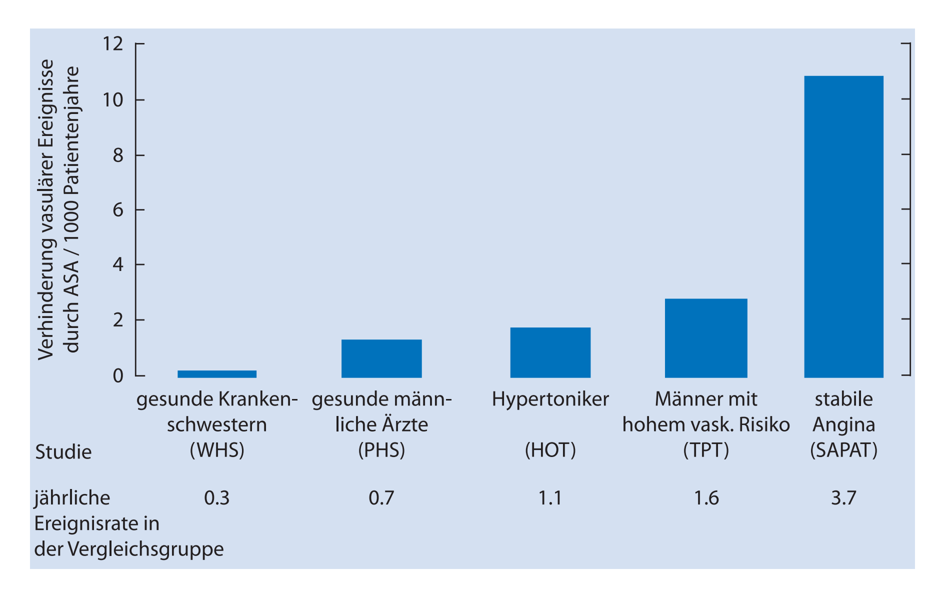



**Abb. 32.2.** Verhinderung kardiovaskulärer Ereignisse (nicht tödlicher Myokardinfarkt, nicht tödlicher Schlaganfall, plötzlicher Herztod) durch ASS in der Primärprävention. Die Wirksamkeit der Prophylaxe nimmt mit steigendem Risikoprofil, d.h. erhöhter Wahrscheinlichkeit eines vaskulären Ereignisses in der unbehandelten Vergleichsgruppe zu



| klinischer Parameter (Grunderkrankung) | Anzahl der ausgewerteten Studien | Risikoverhältnis: Antiplättchentherapie / Kontrolle (Vertrauensintervall) | Risikoreduktion % (SD) |
|---|---|---|---|
| akuter Myokardinfarkt | 15 | | 30 (4) |
| akuter Schlaganfall | 7 | | 11 (3) |
| instabile Angina pectoris | 12 | | 46 (7) |
| koronararterieller Bypass | 25 | | 4 (14) |
| Koronarangioplastie | 9 | | 53 (14) |
| stabile Angina pectoris | 7 | | 33 (9) |
| Vorhofflimmern | 4 | | 24 (9) |
| Herzklappenerkrankung | 3 | | 0 (19) |
| Herzklappenchirurgie | 7 | | 45 (12) |
| total | 195 | | 22 (2) |

0 0.5 1.0 1.5 2.0

Antiplättchentherapie besser | Antiplättchentherapie schlechter

**Abb. 32.3.** Effektivität einer Antiplättchentherapie auf vaskuläre Ereignisse (Herzinfarkt, Schlaganfall, vaskulärer Tod) bei Hochrisikopatienten in Abhängigkeit von der Grundkrankheit

**Akutes Koronarsyndrom.** Die sofortige Gabe einer »loading dose« von 250–500 mg ASS, z. B. i.v. in Form des wasserlöslichen Lysinsalzes, wird für die initiale, d.h. Prähospitalbehandlung, des akuten Koronarsyndroms beim Fehlen von Kontraindikationen empfohlen. Eine solche »loading dose« ist zweckmäßig, um eine möglichst rasche und vollständige Hemmung der Thromboxansynthese aller zirkulierenden Plättchen zu erreichen. Positive Befunde wurden in zwei deutschen Registerstudien bei Patienten mit ST-Hebungs-Infarkten (MITRA, MIR) sowie der GRACE-Studie berichtet.

Die klinische Bedeutung einer frühzeitigen Hemmung der Plättchenfunktion beim frischen Myokardinfarkt durch ASS mit und ohne Lyse für die Verhinderung von Reinfarkten wurde zum ersten Mal in der »International Study on Infarct Survival-2« (ISIS-2) gezeigt. Nach dem Ergebnis einer kürzlich veröffentlichten Metaanalyse reduziert die Fibrinolyse allein die kardiovaskuläre Sterblichkeit innerhalb des ersten Monats nach dem akuten Infarkt um 24%, Fibrinolyse plus ASS dagegen um 40%. Behandlung des ACS durch perkutane transluminale Koronarangioplastie

(PTCA) mit oder ohne nachfolgende Implantation einer Endoprothese (Stent) ist die therapeutische Alternative zur Fibrinolyse und heute Behandlung der ersten Wahl. Ähnlich wie die Fibrinolyse induziert auch die PTCA eine Plättchenaktivierung, hier ausgelöst durch die verfahrensbedingte Schädigung des Gefäßendothels und Exposition des thrombogenen Subendothels gegenüber dem zirkulierenden Blut. ASS ist auch hier Standardmedikation, allerdings allein nicht ausreichend und wird daher in Kombination mit Clopidogrel verwendet (s.u.).

### ASS plus Dipyridamol

Die kombinierte Anwendung von ASS und Dipyridamol in einer Retardformulierung (z. B. Aggrenox®) ist eine empfohlene Therapieoption bei der Prophylaxe zerebraler Infarkte. Allerdings sind Therapieabbrüche von 30% und mehr wegen Nebenwirkungen (Kopfschmerzen!) seitens der Patienten sicher nicht von Vorteil für die Patientencompliance (ESPS-2; ESPRIT). Die PROFESS-Studie verglich die Effektivität der Kombination mit Clopidogrel bei Patienten mit vorangegangenem Schlaganfall. Die Studie war negativ und konnte daher die Frage einer Nichtunterlegenheit nicht beantworten (Diener et al. 2008).

### Clopidogrel und Ticlopidin

Clopidogrel hemmt die Plättchenaktivierung über eine Blockade des $P2Y_{12}$-ADP-Rezeptors mit nachfolgender Hemmung von Plättchensekretion und -aggregation. Diese Wirkung ist unabhängig von ASS und führt bei kombinierter Anwendung zu synergistischen Effekten. Dies gilt auch für eine Zunahme von Blutungsrisiken.

Clopidogrel ist die therapeutische Alternative zu ASS bei bestehender ASS-Unverträglichkeit oder ASS-Kontraindikationen. Die Wirkungsstärke von Clopidogrel bei der kardiokoronaren Prävention liegt nach den Ergebnissen der CAPRIE-Studie in der gleichen Größenordnung wie ASS. Ticlopidin ist eine mögliche Alternative zu Clopidogrel bei dessen Unwirksamkeit (Resistenz). Mögliche Erklärung dafür ist ein unterschiedlicher Mechanismus der hepatischen Bioaktivierung.

Komedikation von Clopidogrel zu ASS bei Patienten mit erhöhtem Atherothromboserisiko ohne Symptomatik führt nicht zu einer verbesserten Langzeitprophylaxe, sondern eher zu einer erhöhten kardiovaskulären Mortalität bei gleichzeitiger (weiterer) Zunahme der Blutungsneigung (CHARISMA). Daher wird die Kombination zur Primärprophylaxe von Risikopatienten nicht empfohlen. Anders verhält es sich bei der Sekundärprophylaxe, wo das Nutzen-Risiko-Verhältnis durch kombinierte Anwendung von Clopidogrel mit ASS verbessert werden kann.

Bei perkutanen Koronarinterventionen bei Patienten mit ACS führt die kombinierte Anwendung von Clopidogrel mit ASS zu einem besseren therapeutischen Ergebnis als ASS allein (CURE) und senkt das absolute Risiko eines neuen vaskulären Ereignisses um 2%. Gleichzeitig war die Zahl der Blutungen erhöht, allerdings nicht die Anzahl lebensbedrohender Blutungen. Dagegen führt die kombinierte Anwendung von Clopidogrel und ASS in der MATCH-Studie zur Sekundärprävention von Schlaganfallpatienten zu keinen positiven klinischen Ergebnissen, erhöht aber signifikant das Risiko schwerer Blutungen im Vergleich zu Clopidogrel allein.

Auch zur Verhinderung von In-Stent-Thrombosen als akut lebensbedrohendem Ereignis ist die Kombination von ASS mit Clopidogrel für zumindest 12 Monate nach der Stentimplantation erforderlich. Eine Aufsättigungsdosis von 600 mg Clopidogrel und Erhaltungsdosis von ca. 75 mg/Tag wird in Kombination mit ASS empfohlen. Diese Kombination war in mehreren randomisierten Studien wirkungsstärker als ASS allein oder ASS in Kombination mit oralen Antikoagulanzien (CLASSICS, TOOPS). Weder ASS noch Clopidogrel verhindern eine Restenosierung. Ein klinisches Problem ist die bei 20–30% der Patienten (je nach Definition) auftretende Clopidogrel»resistenz«, die wahrscheinlich auch klinische Konsequenzen hat.

### GP-IIb-IIIa-Blocker

Eine prophylaktische Anwendung von GP-IIb-IIIa-Blockern wird bei Patienten mit ACS und erhöhtem Risiko (erhöhte Troponine, ST-Depression, Diabetes) empfohlen. Mittel der Wahl sind Eptifibatid oder Tirofiban, bei nicht vorbehandelten Patienten mit geplanter perkutaner Koronarintervention Abciximab. Gleichzeitige Antikoagulation ist zwingend, ebenso Komedikation von Plättchenfunktionshemmern, da GP-IIb-IIIa-Blocker die Plättchenfunktion nicht hemmen. Nach einer Metaanalyse randomisierter Studien reduzieren GP-IIb-IIIa-Blocker signifikant die Letalität nach PCI, allerdings ebenfalls um den Preis erhöhter Blutungen.

### Orale Antikoagulanzien

Orale Antikoagulanzien sind prophylaktisch v. a. bei hohem Risiko einer intravaskulären Thrombinbildung indiziert, z. B. bei künstlichen Herzklappen oder Vorhofflimmern. Positive Wirkungen von oralen Antikoagulanzien bei niedriger INR (1,5) wurden für die Primärprävention von Hochrisikopatienten gezeigt. Diese Effekte wurden durch ASS-Komedikation verstärkt. Die Mehrzahl der vorhandenen Studien zur Sekundärprävention zeigt, dass eine Kombination von niedrigdosierten oralen Antikoagulanzien (INR 1,2–1,5) mit ASS in der kardiokoronaren Sekundärprävention bei ACS-Patienten im Vergleich zu ASS allein keinen zusätzlichen therapeutischen Vorteil bringt, aber zu einer deutlichen Zunahme schwerer Spontanblutungen führt (CARS, 1997; OASIS, 2001, CHAMP, 2002). Eine mögliche Ausnahme sind Lysepatienten mit einem

besonders hohen Risiko von Reokklusionen der infarzierten Koronararterie. Zur Schlaganfallprophylaxe sind orale Antikoagulanzien Mittel der Wahl beim Vorhofflimmern, aber nicht bei anderen Schlaganfallrisikopatienten.

### Statine

Statine sind sowohl für die Primär- als auch Sekundärprophylaxe kardiovaskulärer Ereignisse geeignet. Sie haben neben der Cholesterinsenkung noch weitere, allerdings weniger gut belegte Effekte auf die Plaquestabilisierung, entzündliche Gefäßwandveränderungen (C-reaktives Protein), Restenose nach perkutaner Koronarintervention sowie Hemmung der Thrombozytenaggregation. Das prognostische Ergebnis einer Prophylaxe mit Statinen in der Primär- und Sekundärprophylaxe wird bestimmt von dem Ausmaß der Hypercholesterolämie sowie dem individuellen Risikoprofil. In der Sekundärprophylaxe profitieren auch normocholesterolämische Patienten (CARE, LIPID). Bei diesen Patienten wird ein LDL-Cholesterin von <100 mg/dl angestrebt, in der Primärprävention unter Berücksichtigung möglicher weiterer Risikofaktoren ein Wert von 130–160 mg/dl. Nach dem Ergebnis einer Metaanalyse führt eine Statinprophylaxe zu einer Reduktion des relativen Risikos kardiovaskulärer Todesfälle um 19% und der Schlaganfälle um 16%.

Für eine kombinierte Anwendung von Pravastatin und ASS in der Sekundärprävention wurde in einer Metaanalyse ein synergistischer Effekt gezeigt (Hennekens et al. 2004). Ein ähnlicher positiver Effekt kann auch für andere Statine erwartet werden und wäre angesichts der seit langem bekannten plättcheninhibitorischen Wirkung von Statinen bei Hypercholesterolämie auch nicht überraschend.

### Arzneimittelinteraktionen

#### ACE-Inhibitoren

ASS und ACE Inhibitoren werden in der kardiokoronaren Prävention häufig kombiniert angewandt. ACE Inhibitoren stimulieren die Prostazyklinbildung über eine Hemmung des Bradykininabbaus, ein Effekt, der durch ASS gehemmt werden kann. Eine Antagonisierung der ACE Hemmung durch ASS wurde in 1 von 5 Studien bei Hypertonie gezeigt, 1 von 4 Studien bei koronarer Herzkrankheit aber 9 von 13 Studien bei dekompensierter Herzinsuffizienz. Diese negativen Effekte wurden vorzugsweise bei höheren ASS Dosierungen (>250 mg/Tag) beobachtet, konnten aber in einer aktuellen epidemiologischen Studie an Patienten mit Herzinsuffizienz nicht bestätigt werden. Prospektive, randomisierte Studien mit »harten« Endpunkten (Mortalität) sind erforderlich, um die Frage nach einer klinisch relevanten ACE/ASS Interaktion zu beantworten. Bis diese Studien verfügbar sind, sollten bei Komedikation von ACE-Inhibitoren in der kardiokoronaren Prophylaxe ausschließlich niedrige Dosen von ASS (≤100 mg/Tag) verwendet werden. Sartane, d.h. selektive Inhibitoren des Angiotensin II $AT_1$-Rezeptors, sind eine therapeutische Alternative, da sie nicht mit dem Kininabbau interferieren und daher auch nicht die Prostaglandinbildung hemmen.

#### Nichtsteroidale Antiphlogistika (NSAID) und Coxibe

Neuere Untersuchungen haben Hinweise für eine pharmakologische Interaktion zwischen traditionellen NSAIDs (z. B. Indometazin und Ibuprofen) aber auch Metamizol und den Antiplättchenwirkungen von ASS erbracht, die möglicherweise auch klinisch relevant sind.

Viel diskutiert werden derzeit mögliche negative Effekte selektiver COX-2-Inhibitoren (Coxibe) auf das Herzinfarktrisiko bei Patienten mit erhöhtem kardiovaskulärem Risiko. Eine zentrale Frage ist, ob Coxibe auch (indirekt) die Antiplättchenwirkung von ASS in der (primären) Prävention beeinflussen, besonders dann, wenn es sich um Patienten mit erhöhtem vaskulären Risiko handelt. Eine erhöhte Bildung von vasodilatierenden und plättchenhemmenden Prostaglandinen, d.h. $PGE_2$ und $PGI_2$, bei der Atherosklerose ist gut belegt und möglicherweise erforderlich, um das hämostatische Gleichgewicht aufrecht zu erhalten. Allerdings ergaben zwei neuere Analysen über Coxibe und traditionelle NSAIDs, dass Coxibe nur eine moderate Zunahme des Risikos von vaskulären Ereignissen bewirken, vergleichbar einer Hochdosis Ibuprofen und Diclofenac und dass die Anwendung von allen NSAIDs mit einem mäßigen Risiko für das Auftreten eines ersten Myokardinfarkts assoziiert ist. Ob hier zwischen einzelnen NSAIDs und/oder Coxiben Unterschiede bestehen, ist offen. Allerdings sollte ein Ersatz von ASS durch andere Thrombozytenfunktionshemmer diese Effekte nicht zeigen.

### Literatur


Antithrombotic Trialists' Collaboration (2002) Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. BMJ 324: 71–86

Arca M, Gaspardone A (2007) Atorvastatin efficacy in the primary and secondary prevention of cardiovascular events. Drugs 67, Suppl 1: 29–42

Bhatt DL, Fox KAA, Werner ChB et al. (2006) Clopidogrel and aspirin versus aspirin alone for the prevention of atherothrombotic events. N Engl J Med 354: 1706–1717

Diener HC, Sacco RL, Yusuf S et al; Prevention Regimen for Effectively Avoiding Second Strokes (PRoFESS) study group (2008) Effects of aspirin plus extended-release dipyridamole versus clopidogrel and telmisartan on disability and cognitive function after recurrent stroke in patients with ischaemic stroke in the Prevention Regimen for Effectively Avoiding Second Strokes (PRoFESS) trial: a double-blind, active and placebo-controlled study. Lancet Neurol 7: 875–884. Erratum in: Lancet Neurol 2008;7(11): 985

CARS-Investigators (1997) Randomised double-blind trial of fixed low-dose warfarin with aspirin after myocardial infarction. Lancet 350: 389–396

Catella-Lawson F, Reilly MP, Kapoor SC et al. (2001) Cyclooxygenase inhibitors and the antiplatelet effects of aspirin. N Engl J Med 345: 1809–1817

CURE-Trial Investigators (2001) Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation. N Engl J Med 345: 494–502
Diener HC, Cunha L, Forbes C et al. (1996) European Stroke Prevention Study 2. Dipyridamole and acetylsalicylic acid in the secondary prevention of stroke. J Neurol Sci 143: 1–13
Diener HC, Bogousslavsky J, Brass LM et al. on behalf of the MATCH investigators (2004) Aspirin and clopidogrel compared with clopidogrel alone after recent ischemic stroke in high-risk patients (MATCH): randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Lancet 364: 331–337
(The) ESPRIT-Study Group (2006) Aspirin plus dipyridamole versus aspirin alone after cerebral ischemia of arterial origin (ESPRIT): randomised controlled trial. Lancet 367: 1665–1673
Frilling B, Schiele R, Gitt AK et al. (2001) Characterization and clinical course of patients not receiving aspirin for acute myocardial infarction: results from the MITRA and MIR studies. Am Heart J 141: 200–205
Gawaz M (2004) Role of platelets in coronary thrombosis and reperfusion of ischemic myocardium. Cardiovasc Res 61: 498–511
Geisler T, Graß D, Bigalke B et al. (2008) The Residual Platelet Aggregation after Deployment of Intracoronary Stent (PREDICT) score.J Thromb Haemost 6: 54 – 61
Gent M and CAPRIE Steering Committee (1996) A randomised, blinded trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). Lancet 348: 1329–1339
Helin-Salminvaara A, Virtanen A, Vesalainen R et al. (2006) NSAID use and the risk of hospitalization for first myocardial infarction in the general population: a nationwide case-control study from Finland. Eur Heart J 27: 1657–1663
Hennekens CH, Sacks FM, Tonkin A et al. (2004) Additive benefits of pravastatin and aspirin to decrease risks of cardiovascular disease: randomized and observational comparisons of secondary prevention trials and their meta-analyses. Arch Int Med 164: 40–44
HohlfeldT, Zimmermann N, Weber A-A et al. (2008) Pyrazolinone analgesics prevent the antiplatelet effect of aspirin and preserve human platelet thromboxane synthesis. J Thromb Haemost 6: 166–173
ISIS-2 (1988) Randomized trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both or neither among 17,187 cases of suspected acute myocardial infarction. Lancet 2: 349–360
Juul-Möller S, Edvardsson N, Jahnmatz B et al. () For the Swedish Angina Pectoris Aspirin Trial (SAPAT) Group. Double-blind trial of aspirin in primary prevention of myocardial infarction in patients with chronic stable angina pectoris. Lancet 1992 340: 1421–1425
Kearney PM, Baigent C, Godwin J et al. (2006) Do selective cyclooxygenase-2 inhibitors and traditional non-steroidal anti-inflammatory drugs increase the risk of atherothrombosis? Meta-analysis of randomised trials. BMJ 332: 1302–1308
Labinaz M, Ho C, Banerjee S et al. (2007) Meta-analysis of clinical efficacy and bleeding risk with intravenous glycoprotein IIb/IIIa antagonists for percutaneous coronary intervention. Can J Cardiol 23: 963–970
Laufs U, Liao JK (2000) Targeting Rho in cardiovascular disease. Circ Res 87: 526–528
Massberg S, Schulz C, Gawaz M (2003) Role of platelets in the pathophysiology of acute coronary syndrome. Sem Vasc Med 3: 147–162
Mac Donald TM, Wei L (2003) Effect of ibuprofen on cardioprotective effect of aspirin. Lancet 361: 573–574
(The) Medical Research Council's General Practice Research Framework (1998) Thrombosis prevention trial: randomised trial of low-intensity oral anticoagulation with warfarin and low-dose aspirin in the primary prevention of ischaemic heart disease in men at increased risk. Lancet 351: 233–241
McAlister FA, Ghali WA, Gong Y et al. (2006) Aspirin use and outcomes in a community-based cohort of 7352 patients discharged after first hospitalization for heart failure. Circulation 113: 2572–2578
O'Regan C, Wu P, Arora P et al. (2008) Statin therapy in stroke prevention: a metaanalysis involving 121,000 patients. Am J Med 121: 24–33
Patrono C, Coller B, Dalen JE et al. (2001) Platelet-active drugs. The relationship among dose, effectiveness, and side effects. Chest 119: 39S–63S
Sacks FM, Pfeffer MA, Moye LA et al. for the Cholesterol and Recurrent Events Trial Investigators (CARE) (1996) The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. N Engl J Med 335: 1001–1009
Schrör K. Mehta P, Mehta JL (2005) Cardiovascular risk of selective cyclooxygenase-2-inhibitors. J Cardiovasc Pharmacol Ther 10: 95–101
Siller-Matula J, Schrör K, Wojta J, Huber K (2007) Thienopyridines in cardiovascular disease: Focus on clopidogrel resistance. Thromb Haemost 97: 385–393
Spencer FA, Santopinto JJ, Gore JM, Goldberg RJ et al. (2002) Impact of aspirin on presentation and hospital outcomes in patients with acute coronary syndromes (The Global Registry of acute Coronary Events [GRACE]). Am J Cardiol 90: 1056–1061
Steering Committee of the Physicians' Health Study Research Group (1989) Final report on the aspirin component of the ongoing Physicians' Health Study. N Engl J Med 321: 129–135
Stys T, Lawson WE, Smaldone GC, Stys A (2000) Does aspirin attenuate the beneficial effects of angiotensin-converting enzyme inhibition in heart failure? Arch Int Med 160: 1409–1413

## 32.2 Ischämischer Hirninfarkt

*D. Sander*



### Einleitung

In Deutschland erleiden jedes Jahr 150.000–200.000 Menschen einen Schlaganfall, d. h. etwa alle 3–4 min tritt ein Schlaganfall auf. Der Schlaganfall stellt die dritthäufigste Todesursache nach der KHK und malignen Erkrankungen dar. In den nächsten Jahren ist – nicht zuletzt aufgrund der demographischen Entwicklung – mit einem weiteren Anstieg der Schlaganfallinzidenz zu rechnen. 80–85% der Schlaganfälle werden durch eine Ischämie, 15–20% durch eine Blutung verursacht. Der akute Hirninfarkt erfordert eine akute diagnostische Abklärung und Therapie optimalerweise auf einer speziellen Schlaganfalleinheit (»stroke unit«). Es gilt der Grundsatz »time is brain«. Aktuelle Empfehlungen finden sich im Internet unter www.dgn.org.

### 32.2.1 Definition und Epidemiologie

**Definition**

Nach der WHO wird der Schlaganfall definiert als sich rasch entwickelnde klinische Symptomatik einer fokalen (oder globalen) Hirnfunktionsstörung, die mindestens 24 h dauert und für die sich nur eine vaskuläre Ursache findet.

Entsprechend dem zeitlichen Verlauf der Symptome wird zwischen transienter ischämischer Attacke (TIA, Symptome <24 h, meist <1 h) und vollendetem Insult (»completed stroke«) unterschieden. Basierend auf der Schwere der Symptomatik wird zwischen »minor stroke« (reversibles oder nicht behinderndes Defizit) und »major stroke« (behinderndes Defizit) differenziert.

Obwohl in den letzten Jahren wesentliche Fortschritte in der Akutbehandlung des Hirninfarkts zu verzeichnen sind, ist der Hirninfarkt nach wie vor die häufigste zu dauerhafter Behinderung führende Erkrankung. Zurzeit leben in Deutschland 1–1,5 Mio. Menschen mit Behinderungen aufgrund eines Schlaganfalls (Statistisches Bundesamt 2003). Daher kommt einer gezielten Primärprävention und einer effektiven – an die Ätiopathogenese des Hirninfarkts angepassten – Sekundärprävention eine wesentliche Bedeutung zu.

### 32.2.2 Pathophysiologie und Diagnostik

Eine potenzielle reversible zerebrale Ischämie tritt auf, wenn die lokale Hirndurchblutung soweit verringert ist, dass der neuronale Funktionsstoffwechsel nicht mehr aufrechterhalten werden kann (Ischämieschwelle). Neben der absoluten Höhe der Restdurchblutung und des Sauerstoff- bzw. Glukoseanteils im Blut entscheidet auch die Dauer einer Perfusionsstörung darüber, ob nur eine Ischämie (Funktionsstörung) oder ein Infarkt auftritt.

In der Umgebung des Infarktkerns befindet sich Hirngewebe, dessen Durchblutung zwischen Infarkt- und Ischämieschwelle liegt und das gefährdet und funktionsgestört ist, aber bei rechtzeitiger Reperfusion gerettet werden kann. Es wird als Penumbra bezeichnet. Ziel der Akuttherapie ist es, eine möglichst schnelle Reperfusion zu erreichen, um die Penumbra zu retten (Adams et al. 2007) Eine fokale Minderdurchblutung entwickelt sich bei embolisch oder arterioarteriell bedingtem akutem Gefäßverschluss.

Zerebrale Ischämien sind zu 25–30% kardioembolisch, zu 20% makroangiopathisch und zu 20% mikroangiopatisch bedingt. Die übrigen Ischämien bleiben ätiologisch ungeklärt oder werden durch seltenere Ursachen (z. B. Dissektion, Koagulopathien etc.) verursacht.

Bei den Risikofaktoren für den Hirninfarkt wird zwischen nichtmodifizierbaren und modifizierbaren Faktoren unterschieden. Zu den nichtmodifizierbaren Risikofaktoren gehören Alter, Geschlecht und genetische Prädisposition. Der wichtigste modifizierbare Risikofaktor für den Hirninfarkt ist der arterielle Hypertonus mit einer Prävalenz von 25–40% in der Gesamtbevölkerung. Weitere Risikofaktoren sind Diabetes mellitus, Alkoholmissbrauch, Nikotinkonsum, Hyperlipidämie und das idiopathische Vorhofflimmern (Adams et al. 2008).

Die Diagnosestellung erfolgt klinisch (neurologische und internistische Untersuchung) und mittels geeigneter apparativer Zusatzdiagnostik. Zur Differenzierung zwischen Ischämie und Blutung ist eine Bildgebung (CT oder MRT) erforderlich. Notwendig ist die Erfassung vaskulärer Risikofaktoren (Blutdruck, Blutzucker, Cholesterin, Nikotin etc.). Zur weiteren ätiopathogenetischen Abklärung werden extra- und transkranielle Doppler- und Duplexsonographie,

**Tab. 32.3.** Diagnostik bei Schlaganfall

| Routinediagnostik | Fakultative Diagnostik |
|---|---|
| – Neurologisch-internistische Untersuchung<br>– CCT/cMRT (Anzahl u. Größe der Infarkte, Infarktmuster)<br>– extra- und transkranieller Doppler u. Duplex (Stenosen)<br>– Labor<br>– EKG (Rhythmus, VHF)<br>– Echokardiographie (Akinesien, Thromben, PFO, Vorhofseptumaneurysma etc.) | – Langzeit-RR (Hypertonus, Rhythmik)<br>– Langzeit-EKG (intermittierendes VHF)<br>– Speziallabor (Vaskulitisparameter, spezielle Gerinnungsparameter)<br>– Angiographie (Vaskulitis, Stenose)<br>– transkranielle Emboliedetektion<br>– Bestimmung der zerebralen Reservekapazität |

*CCT* kraniale Computertomographie; *PFO* persistierendes Formaen ovale; *VHF* Vorhofflimmern

**Tab. 32.4.** Effektivität der akuten Schlaganfallbehandlung: Evidenzbasierte spezifische Therapie

| Intervention | Tod oder Abhängigkeit [%] (Kontrolle vs. Intervention) | Relative Risikoreduktion [%] (95% Konfidenzintervall) | Anzahl notwendiger Behandlungen |
|---|---|---|---|
| Stroke Unit | 62 vs. 54 | 9 (4–14) | 18 |
| ASS | 47,0 vs. 45,8 | 3 (1–5) | 83 |
| Systemische Thrombolyse (0–3 h) | 62,7 vs. 56,4 | 10 (5–15) | 9 |

EKG, Herzechokardiographie, Langzeit-EKG und -blutdruckmessung sowie ggf. spezielle Laboruntersuchungen (Vaskulitisparameter, Gerinnung) eingesetzt (Tab. 32.3).

### 32.2.3 Therapie

Die medizinische Behandlung des Patienten mit akutem Hirninfarkt setzt sich aus 5 Bestandteilen zusammen:

- Monitoring und Behandlung vitaler Parameter wie Blutdruck, Körpertemperatur, Herzfrequenz, $O_2$-Sättigung, Blutzucker etc.,
- spezifische Behandlung: Stroke Unit, rekanalisierende Therapie, ASS,
- frühe Sekundärprophylaxe,
- Vorbeugung und Behandlung von Komplikationen,
- frühzeitige rehabilitative Maßnahmen.

Gemäß dem »time is brain«-Konzept« gelten folgende Zeitvorgaben als Anhaltspunkte für die Abläufe in der Klinik:

- Innerhalb von 10 min nach Eintreffen sollte der Patient von einem Arzt gesehen werden.
- Das CCT (kraniale Computertomographie) sollte innerhalb von 25 min beginnen, spätestens 10 min danach sollte das Ergebnis vorliegen.
- Die spezifische Behandlung sollte innerhalb von 60 min – besser innerhalb von 45 min – nach Eintreffen beginnen.

Bisher existieren lediglich 3 evidenzbasierte Behandlungskonzepte, die in großen Untersuchungen wirksam in der Schlaganfallbehandlung waren: Die Behandlung auf der Stroke Unit, die systemische Thrombolyse, sowie die frühe Gabe von ASS (Tab. 32.4, Adams 2008).

#### Allgemeine Behandlungsmaßnahmen

Bei Patienten mit schwerem Hirninfarkt muss auf eine ausreichende Oxygenierung geachtet werden. Hypertensive Blutdruckwerte sollten in der Akutphase nicht behandelt werden, solange keine kritischen Blutdruckgrenzen überschritten werden (Tab. 32.5), da die Durchblutung der Penumbra vom arteriellen Mitteldruck abhängig ist (Eames et al. 2002) und erhöhte Blutdruckwerte in der Akutphase häufig sind (Leonardi-Bee et al. 2002). Zu vermeiden ist der Einsatz von Nifedipin, Nimodipin und aller Maßnahmen, die zu einem ausgeprägten Blutdruckabfall führen. Eine arterielle Hypotonie sollte vermieden und durch die Gabe geeigneter Flüssigkeiten und/oder Katecholaminen (außer Dopamin) behandelt werden.

Regelmäßige Blutzuckerkontrollen sollten durchgeführt werden und ein Serumglukosespiegel >200 mg/dl mit Normalinsulingaben therapiert werden. Ein Anstieg der Körpertemperatur über 37,5° C sollte z. B. mit Paracetamol gesenkt werden (Khaja u. Grotta 2007).

**Cave**

In bis zu 50% der Schlaganfallpatienten lässt sich in der Initialphase eine Aspirationsneigung mit Pneumoniegefahr nachweisen (Weimar et al. 2002), sodass die orale Nahrungsaufnahme bis zur Durchführung einer Schluckdiagnostik unterbrochen werden muss.

**Tab. 32.5.** Empfohlene antihypertensive Therapie beim akuten Hirninfarkt

| Blutdruck (mmHg) | Therapie |
|---|---|
| – Systemisch 180–220 und/oder<br>– diastolisch 105–120 | – Keine Therapie<br>– Ausnahme: bei geplanter Thrombolyse, Ziel-RR systolisch <180 mmHg |
| – Systemisch >220 und/oder<br>– diastolisch >120–140 mmHg bei wiederholter Messung | – Captopril 6,25–12,5 mg p.o./i.v.<br>– Urapidil 10–50 mg i.v., anschließend 4–8 mg/h i.v.<br>– Clonidin 0,15–0,3 mg i.v./s.c.<br>– Dihydralazin 5 mg i.v. plus Metoprolol 10 mg i.v. |
| – Diastolisch >140 mmHg | – Nitroglycerin 5 mg i.v., anschließend 1–4 mg/h i.v.<br>– als Ultima ratio: Natriumnitroprussid 1–2 mg i.v. |

32

#### Rekanalisierende Therapie

Die systemische Thrombolyse mit rt-PA (»recombinant tissue plasmonigen activator«) führt zu einem signifikant verbesserten Outcome nach einem Hirninfarkt innerhalb eines 3-Stunden-Zeitfensters (0,9 mg/kgKG, Maximum 90 mg, 10% der Gesamtdosis als Bolus, die restlichen 90% im Anschluss als Infusion über 60 min). Mit geringerem Behandlungseffekt ist diese Therapie wahrscheinlich auch in einem 4,5-Stunden-Zeitfenster wirksam, ist aber ebenso wie eine MRT-basierte Patientenauswahl anhand der Größe der Penumbra nicht zugelassen (Adams et al. 2007).

Die intraarterielle Behandlung proximaler Verschlüsse der A. cerebri media mit einem Plasminogenaktivator führt innerhalb eines 6-Stunden-Zeitfensters zu einer signifikanten Verbesserung des Outcome und kann als individueller Heilversuch durchgeführt werden. Mechanische Rekanalisationsverfahren mit speziellen Thromboektomiekathetern oder Laserinstrumenten sind bisher nur in kleineren Studien untersucht worden und bleiben erfahrenen Zentren vorbehalten (Khaja u. Grotta 2007).

Bei Vorliegen einer Basilaristhrombose (fluktuierende Vigilanzstörung, Hirnnervenausfälle und Vigilanzstörung, bilaterale Pyramidenbahnzeichen) sollte bevorzugt eine lokale Lyse mit rt-PA und ggf. eine Stentversorgung der Reststenose erfolgen, sofern keine Kontraindikationen gegen die lokale Lyse vorliegen (kein Koma >4–6 h, keine Blutung oder ausgedehnte Infarkte im hinteren Stromgebiet). Auch die initiale systemische rt-PA-Lyse ist bei fehlender rascher Verfügbarkeit der lokalen Lyse eine Option, ggf. gefolgt von lokaler Lyse oder mechanischen Verfahren.

#### Frühe Sekundärprävention

> **! Die Gabe von ASS (100–300 mg) in der Frühphase nach einem Hirninfarkt ist sinnvoll, allerdings nicht, wenn eine Lysetherapie geplant ist. Auch in den ersten 24 h nach Lyse ist die Gabe von ASS nicht indiziert.**

Für andere Thrombozytenfunktionshemmer gibt es in der Frühphase nach Hirninfarkt keine Evidenz. Die Gabe von Heparin in APTT-relevanter Dosierung oder die entsprechende Gabe von niedermolekularem Heparin ist in unausgewählten Patientenkollektiven nicht wirksam, kann jedoch bei definierten Patienten mit Nachweis einer Emboliequelle und erhöhtem Rezidivrisiko indiziert sein (Adams et al. 2007).

Die Frühmobilisation ist hilfreich bei der Vermeidung zahlreicher Komplikationen. Niedrig dosiertes subkutanes unfraktioniertes Heparin oder niedermolekulares Heparin sollte zur Prophylaxe der tiefen Beinvenenthrombose und Lungenembolie verabreicht werden.

### 32.2.4 Primär- und Sekundärprävention

Neben allgemeinen Maßnahmen wie Gewichtsoptimierung, Nikotinkarenz, regelmäßiger Bewegung und mediterraner Diät umfasst die Prävention des Hirninfarkts die medikamentöse Behandlung von Hypertonus und Diabetes, die Gabe von Antithrombotika sowie eines Statins (Goldstein et al. 2006). Die Gabe von Folat und Vitamin-B-Komplex kann in der Primär-, nicht aber in der Sekundärprävention das Schlaganfallrisiko reduzieren (Wang et al. 2007).

Bei hochgradiger symptomatischer Karotisstenose wird eine TEA (Thrombendarteriektomie) empfohlen, bei hochgradiger asymptomatischer Karotisstenose muss individuell entschieden werden, ob eine TEA oder die konservative Therapie erfolgt (Goldstein et al. 2006). Die Karotis-PTA mit Stent stellt bisher noch kein Routineverfahren dar (PTA=perkutane transluminale Angioplastie; Diener et al. 2007).

#### Antithrombotische Therapie

##### Antikoagulation

Zur Primärprävention ist die orale Antikoagulation von Patienten mit Vorhofflimmern (VHF) und vaskulären Risikofaktoren (Hypertonie, KHK, Alter >75 Jahre) mit einer INR zwischen 2–3 sinnvoll (absolute Risikoreduktion: 3% pro Jahr). Patienten mit isoliertem VHF und einem Alter <65

Jahre sollten nicht antikoaguliert werden, können aber ASS 300 mg/Tag erhalten. Patienten >65 Jahre und isoliertem VHF sollten 300 mg ASS/Tag erhalten, ebenso wie Patienten mit Kontraindikationen gegen eine Antikoagulation (Diener et al. 2007). Nach den Daten der ACTIVE-W-Studie ist die Gabe von ASS plus Clopidogrel der Antikoagulation bei Patienten mit VHF und einem zusätzlichen Schlaganfallrisikofaktor eindeutig unterlegen (Connolly et al. 2006).

In der Sekundärprävention wird durch die orale Antikoagulation bei VHF eine 70%ige Risikoreduktion gegenüber Placebo erreicht. Der Ziel-INR sollte bei 2,5–3 liegen. Nach TIA und leichtem Hirninfarkt kann die Antikoagulation innerhalb von 3–5 Tagen begonnen werden (Sacco et al. 2006).

### Thrombozytenfunktionshemmer

Die generelle prophylaktische Gabe von ASS im Rahmen der Primärprävention des Hirninfarkts wird nicht empfohlen. Im Rahmen der Sekundärprävention des nicht kardioembolischen Hirninfarkts führen Thrombozytenfunktionshemmer zu einer relativen Risikoreduktion von 23% (von 10,8% auf 8,3% in 3 Jahren). Wirksam sind ASS (50–325 mg), die Kombination aus ASS (2-mal 25 mg) plus retardiertes Dipyridamol (2-mal 200 mg) nach der ESPRIT-Studie (Esprit study group 2006). Clopidogrel (75 mg) und ASS/Dipyramidol sind nach der PROFESS-Studie gleich wirksam, allerdings bei weniger Nebenwirkungen unter Clopidogrel (Sacco et al. 2008).

Um eine optimierte Therapie mit Thrombozytenfunktionshemmern zu ermöglichen, wurde der »Essen Risk Score« (ERS) zur Berechnung des Hirninfarktrezidivrisikos entwickelt und eine risikoadaptierte Gabe von Thrombozytenfunktionshemmern vorgeschlagen (Diener et al. 2007): Bei Patienten nach TIA und Hirninfarkt mit geringem Rezidivrisiko basierend auf dem ERS (<4% pro Jahr) wird die ASS-Monotherapie empfohlen. Bei Patienten mit hohem Rezidivrisiko (>4% pro Jahr) wird die 2-mal tägliche Gabe von ASS plus Dipyramidol empfohlen. Bei Patienten mit hohem Risiko und zusätzlicher (symptomatischer) pAVK (periphere arterielle Verschlusskrankheit) oder schwerer KHK ist die Gabe von Clopidogrel der ASS-Behandlung überlegen. Im Gegensatz dazu gibt die AHA (American Heart Association) aufgrund bisher unzureichender Evidenz nur allgemeine Empfehlungen hinsichtlich der Auswahl der Thrombozytenfunktionshemmer (Sacco et al. 2006).

ASS in Dosierungen über 150 mg/Tag führt zu einem erhöhten Blutungsrisiko. Bei Patienten mit Kontraindikationen gegen oder Unverträglichkeit von ASS wird Clopidogrel empfohlen. Nach den Ergebnissen der MATCH- und CHARISMA-Studie ist die Kombination aus ASS plus Clopidogrel im Vergleich zur ASS- oder Clopidogrelmonotherapie nicht eindeutig wirksamer, führt aber zu vermehrten Blutungskomplikationen (Diener et al. 2004; Bhatt et al. 2006). Möglicherweise führt die frühe (<24 h nach Symptombeginn) und zeitlich limitierte duale Gabe von ASS und Clopidogrel zu einer Reduktion von Infarktrezidiven.

**! Kommt es unter ASS zu einem erneuten Ereignis müssen Pathophysiologie und Rezidivrisiko erneut evaluiert werden. Bei Nachweis einer kardialen Emboliequelle erfolgt eine Antikoagulation, ansonsten wird entsprechend den oben angegebenen Empfehlungen vorgegangen.**

### Therapie bei Hypertonus

Die Behandlung der arteriellen Hypertonie führt zu einer ausgeprägten Risikoreduktion für zerebrovaskuläre Ereignisse (40%ige relative Risikoreduktion bei Senkung des systolischen Blutdrucks um 5–6 mmHg bzw. des diastolischen Drucks um 2–3 mm; Collins et al. 1990). Dieser Effekt ist auch für über 80-Jährige und bei isolierter systolischer Hypertonie nachgewiesen (Staessen et al. 2001). Der Zielbereich, bis zu dem der Blutdruck gesenkt werden sollte, orientiert sich an den Empfehlungen der Deutschen Hochdruckliga (www.hochdruckliga.de). Als Minimalziele gelten Werte <140/80 mmHg.

Hinsichtlich der medikamentösen antihypertensiven Therapie bestehen für kombinierte Endpunkte keine gesicherten Unterschiede zwischen ACE-Hemmern, Betablockern, Kalziumantagonisten und Diuretika (Goldstein et al. 2006, Sacco et al. 2006). Es zeigte sich eine Überlegenheit in der Prävention zerebrovaskulärer Ereignisse für AT-Blocker und Kalziumantagonisten (Staessen et al. 2001). Lorsatan ist v. a. hinsichtlich zerebrovaskulärer Ereignisse wirksamer als Atenolol (Dahlof et al. 2002). Für Betablocker wurde in jüngster Zeit angezweifelt, ob sie weiterhin als Substanzen erster Wahl anzusehen sind (Lindholm et al. 2005). Die Überlegenheit der AT-Blocker könnte unter anderem durch eine bessere Wirksamkeit auf den zentralen Blutdruck (Williams et al. 2006) oder durch eine reduzierte Rate des Neuauftretens von VHF (Healy et al. 2005) verursacht sein.

### Therapie bei Diabetes

Obwohl der Diabetes einen unabhängigen Risikofaktor für Schlaganfälle darstellt, konnte bisher keine Primärpräventionsstudie eine Senkung von Schlaganfällen belegen. Allerdings zeigte die Steno-2-Studie eine 50%ige Risikoreduktion kardiovaskulärer Komplikationen durch eine intensivierte antidiabetische Behandlung (Gaede et al. 2003) und die PROactive-Studie bei Diabetikern mit Schlaganfall eine signifikante 47%ige relative Risikoreduktion für das Auftreten eines tödlichen oder nicht tödlichen Rezidivschlaganfalls (Wilcox et al. 2007).

Auch eine optimierte Blutdruckeinstellung reduziert bei Diabetikern das Schlaganfallrisiko, sodass der Zielwert

<130/85 mmHg beträgt. Wegen der gewünschten Beeinflussung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems sollten bei Diabetikern bevorzugt AT-Blocker oder ACE-Hemmer eingesetzt werden. Normoglykämische Werte sollten durch Diät, regelmäßige Bewegung, Antidiabetika und bei Bedarf Insulin erreicht werden (Goldstein et al. 2006).

### Statine

Statine senken das Schlaganfallrisiko nach einer aktuellen Metaanalyse durchschnittlich um 21% (Amarenco et al. 2004), wobei im Rahmen der Primärprävention insbesondere Patienten mit Diabetes profitieren (relative Risikoreduktion 48%; Colhoun et al. 2004). Im Rahmen der Sekundärprävention konnten sowohl die HPS-Studie (40 mg Simvastatin; HPS 2002) als auch die SPARCL-Studie (80 mg Atorvastatin; Amarenco et al. 2006) eine deutliche Senkung von kardialen Ereignissen (relative Risikoreduktion 20% bzw. 42%) bzw. revaskularisierenden Eingriffen (50% bzw. 45%) nachweisen. In der SPARCL-Studie gelang erstmals auch die Reduktion von zerebrovaskulären Ereignissen. In der Sekundärprävention ist ein LDL-Cholesterinwert unter 100 mg/dl anzustreben (Sacco et al. 2006).



### Therapie bei hochgradiger Karotisstenose

Zur Diagnosesicherung der Karotisstenose sind neurosonologische Verfahren, MR- oder CT-Angiographie ausreichend. Die höchste Sensitivität und Spezifität bietet die kontrastverstärkte MRA.

#### Asymptomatische Patienten

Bei Patienten mit asymptomatischen hochgradigen Karotisstenosen (>60% nach doppler- oder duplexsonographischen Kriterien) ist die Karotis-TEA bei einem erfahrenen Operateur in der Lage, das Schlaganfallrisiko zu reduzieren (periprozedurales Risiko innerhalb von 30 Tagen <3%). Die Lebenserwartung sollte >5 Jahre sein. Der Benefit ist bei Frauen deutlich geringer als bei Männern. Die Anzahl notweniger Behandlungen (NNT=»Number needed to treat«) zur Verhinderung eines Schlaganfalls innerhalb von 5 Jahren beträgt 17–19.

Entscheidend für die Gesamtprognose eines Patienten mit asymptomatischer Karotisstenose bleibt eine ausführliche kardiale Abklärung, ein Screening auf eine (asymptomatische) pAVK, die Modifikation der vaskulären Risikofaktoren und eine optimale medikamentöse Therapie, da kardiale Ursachen 3-mal häufiger zum Tod führen als ein Hirninfarkt (Goldstein et al. 2006).

Durch die Anwendung zusätzlicher Untersuchungsverfahren wie transkranieller dopplersonographischer Emboliedetektion bzw. »plaque Imaging« mittels hochauflösendem MRT ist es möglich, Hochrisikopatienten zu selektieren. Es gibt gegenwärtig keine Evidenz, dass die endovaskuläre Behandlung asymptomatischer Karotisstenosen im Vergleich zur konservativen Therapie eine Reduktion des Schlaganfallrisikos bewirkt.

**! Patienten mit asymptomatischer Karotisstenose benötigen eine Thrombozytenfunktionshemmung mit ASS und zur Plaquestabilisierung ein Statin mit einem Ziel-LDL <100 mg/dl.**

#### Symptomatische Patienten

Bei hochgradigen symptomatischen Karotisstenosen ist eine TEA wirksam, wenn die perioperative Komplikationsrate <6% beträgt (absolute Risikoreduktion 15,9% über 5 Jahre; NNT von 6 um einen Schlaganfall in 5 Jahren zu vermeiden). Der Nutzen nimmt mit dem Stenosegrad zwischen 70 und 95% zu, ist bei Stenosen zwischen 50 und 70%, bei Frauen und wenn die OP jenseits der 2. Woche nach dem Indexereignis durchgeführt wird geringer (Sacco et al. 2006; Diener et al. 2007). ASS sollte vor, während und nach der TEA weiter verabreicht werden, Clopidogrel wird spätestens 5 Tage vor der TEA durch ASS ersetzt.

Die Karotis-PTA mit Stenting ist im Moment kein Routineverfahren und hat im Vergleich zur TEA ein leicht erhöhtes periprozedurales Risiko (30 Tage). Die Komplikationsraten beider Verfahren variieren stark, sodass in die Therapieentscheidung die Komplikationsrate des Therapeuten einfließen sollte (Diener et al. 2007, Fayad 2007). Eine PTA mit Stenting kommt bei Rezidivstenosen nach TEA, Stenosen nach Strahlentherapie oder chirurgisch schwer zugänglichen Stenosen in Betracht.

### Literatur


Adams HP, del Zoppo G, Alberts MJ et al. (2007) Guidelines for the early management of adults with ischemic stroke. Stroke 38: 1655–1711

Adams RJ, Albers G, Alberts MJ et al. (2008) Update to the AHA/ASA Recommendations for the prevention of stroke in patients with stroke and transient ischemic attacks. Stroke 39: 1647–1652

Albers G et al. (2006) Guidelines for the prevention of stroke in patients with ischemic stroke or transient ischemic attacks. Circulation 113: e409–e449

Amarenco P, Bogousslavsky J, Callahan A 3rd et al. (2006) High-dose atorvastatin after stroke or transient ischemic attack. N Engl J Med 355: 549–559

Amarenco P, Labreuche J, Lavallee P, Touboul PJ (2004) Statins in stroke prevention and carotid atherosclerosis: systematic review and up-to-date meta-analysis. Stroke 35: 2902–2909

Bhatt DL, Fox KAA, Hacke W (2006) Clopidogrel and aspirin versus aspirin alone for the prevention of atherothrombotic events. N Engl J Med 354: 1706–1717

Colhoun HM, Betteridge DJ, Durrington PN et al. (2004) Primary prevention of cardiovascular disease with atorvastatin in type 2 diabetes in the Collaborative Atorvastatin Diabetes Study (CARDS): multicentre randomised placebo-controlled trial. Lancet 364: 685–696

Collins R, Peto R, MacMahon S et al. (1990) Blood pressure, stroke, and coronary heart disease. Part 2, Short-term reductions in blood pressure: overview of randomised drug trials in their epidemiological context. Lancet 335: 827–838

Connolly S, Pogue J, Hart R et al. (2006) Clopidogrel plus aspirin versus oral anticoagulation for atrial fibrillation in the Atrial fibrillation Clopidogrel Trial with Irbesatan for prevention of Vascular Events (ACTIVE-W): a randomized controlled trial. Lancet 367: 1903–1912

Dahlof B, Devereux RB, Kjeldsen SE et al. (2002) Cardiovascular morbidity and mortality in the Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomised trial against atenolol. Lancet 359: 995–1003

Diener HC, Allenberg JR, Bode C et al. (2007) Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie und der Deutschen Schlaganfallgesellschaft zur Primär- und Sekundärprävention des Schlaganfalls. Akt Neurol 34: 8–12

Diener HC, Bogousslavsky J, Brass LM et al. (2004) Aspirin and clopidogrel compared with clopidogrel alone after recent ischaemic stroke or transient ischaemic attack in high-risk patients (MATCH): randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Lancet 364: 331–337

Eames PJ, Blake MJ, Dawson SL et al. (2002) Dynamic cerebral autoregulation and beat to beat blood pressure control are impaired in acute stroke. J Neurol Neurosurg Psychiatry 72: 467–472

Esprit study group (2006) Aspirin plus dipyridamole versus aspirin alone after cerebral ischemia of arterial origin (ESPRIT): randomized controlled trial. Lancet 367: 1665–1673

Fayad P (2007) Endarterectomy and stenting for asymptomatic carotid stenosis: a race at breakneck speed. Stroke 38: 707–714

Gaede P, Vedel P, Larsen N, et al. (2003) Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. N Engl J Med 348: 383–393

Goldstein LB, Adams R, Alberts MJ, et al. (2006) Primary prevention of ischemic stroke: a guideline from the American Heart Association/ American Stroke Association Stroke Council. Stroke 37: 1583–1633

Healy JS, Baranchuk A, Crystal E (2005) Prevention of atrial fibrillation with Angiotensin-Converting enzyme inhibitors and Angiotensin Receptor Blockers. JACC 45: 1832–1839

Khaja, AM, Grotta JC (2007) Established treatments for acute ischaemic stroke. Lancet 369: 319–330

Leonardi-Bee L, Bath PM, Philips SJ, Sandercock PA (2002) Blood pressure and clinical outcomes in the International Stroke Trial. Stroke 33: 1315–1320

Lindholm LH, Carlberg B, Samuelsson O (2005) Should beta blockers remain first choice in the treatment of primary hypertension? A meta-analysis. Lancet 366: 1545–1553

MRC/BHF (2002) MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. Lancet 360: 7–22.Sacco RL, Adams R,

Sacco RL, Diener HC, Yusuf S (2008) Aspirin and Extended-Release Dipyridamole versus Clopidogrel for recurrent stroke. N Engl J Med 359: 1238–1251

Statistisches Bundesamt (2003) Statistisches Jahrbuch. Wiesbaden: Statistisches Bundesamt

Staessen JA, Wang JG, Thijs L (2001) Cardiovascular protection and blood pressure reduction: a meta-analysis. Lancet 358: 1305–1315

Wang X, Qin X, Demirtas H et al. (2007) Efficacy of folic acid supplementation in stroke prevention: a meta-analysis. Lancet 369: 1876–1882

Weimar C, Roth MP, Zillessen G et al. (2002) Complications following acute ischemic stroke. Eur Neurol 48: 133–140

Wilcox R, Bousser MG, Betteridge DJ, et al. (2007) Effects of pioglitazone in patients with type 2 diabetes with or without previous stroke: results from PROactive (PROspective pioglitAzone Clinical Trial In macroVascular Events). Stroke 38: 865–873

Williams B, Lacy PS, Thom SM, et al. (2006) Differential impact of blood pressure-lowering drugs on central aortic pressure and clinical outcomes: principal results of the Conduit Artery Function Evaluation (CAFE) study. Circulation 113: 1213–1225

## 32.3 Akutes Koronarsyndrom

*A. E. May*



### Einleitung

Kardiovaskuläre Erkrankungen sind die Haupttodesursache in Deutschland und den westlichen Industriestaaten. Das akute Koronarsyndrom (ACS) umfasst einen Sammelbegriff für alle kurzfristig lebensbedrohlichen Phasen der koronaren Herzerkankung, den ST-Hebungs-Infarkt (STEMI), den Nicht-ST-Hebungs-Infarkt (NSTEMI) und die instabile Angina pectoris. Anhand von EKG-Kriterien werden Patienten mit ST-Hebungen (STEMI) bzw. ohne ST-Hebungen (instabile Angina pectoris und NSTEMI) unterschieden (▫ Abb. 32.4). STEMI umfasst Patienten mit ST-Strecken-Hebungen oder neu aufgetretenem Linksschenkelblock (LSB) im EKG, der NSTEMI diejenigen ohne diese Kriterien mit positiven Ischämiemarkern im Blut (Troponin bzw. myokardspezifische Kreatinkinase, CKMB). Die instabile Angina pectoris ist durch eine typische Klinik mit dynamischen EKG-Veränderungen (keine ST-Hebungen) ohne Nachweis von Ischämiemarkern gekennzeichnet.

Obwohl die klinischen Übergänge fließend sind, hat sich diese Unterteilung aufgrund unterschiedlicher therapeutischer Vorgehensweisen etabliert. Das Vorhandensein verschiedener Merkmale (u. a. Troponinnachweis, dynamische EKG-Veränderungen, Diabetes mellitus, klinische Instabilität) ermöglicht die rasche Risikostratifizierung bei Patienten ohne ST-Streckenhebungen im EKG und die Einleitung entsprechender therapeutischer Maßnahmen.

32

**▫ Tab. 32.6.** Klassifizierung des akuten Koronarsyndroms

| STEMI | NSTEMI | Instabile Angina pectoris |
|---|---|---|
| **EKG** | | |
| ST-Hebung (LSB neu) | Keine ST-Hebung | Keine ST-Hebung |
| **Troponin/CKMB** | | |
| Positiv | Positiv | 2-mal negativ* |

* Bei Klinikaufnahme und im Verlauf (meist Standardkontrolle nach 4 h). *LSB* Linksschenkelblock; *CKMB* myokardspezifische Kreatinkinase

### 32.3.1 Allgemeine Maßnahmen und Primärtherapie

Die Abklärung bei Verdacht auf ein akutes Koronarsyndrom (ACS, ▫ Tab. 32.6) hat in der Regel in einer Notaufnahme eines Krankenhauses zu erfolgen. Um Diagnose- und Behandlungsabläufe zu optimieren, werden weltweit zunehmend sogenannte »chest pain units« in klinischen Notaufnahmen eingerichtet. Das diagnostische und therapeutische Vorgehen lässt sich in einem Algorithmus darstellen (▫ Abb. 32.4).

Die ersten **Allgemeinmaßnahmen** beinhalten bei allen Patienten mit Verdacht auf ein ACS die Lagerung mit erhöhtem Oberkörper (ca. 30°), $O_2$-Applikation (4–8 l/min) über die Nasensonde, Herzrhythmusüberwachung sowie nach ersten diagnostischen Maßnahmen (Inspektion, Herz- und Lungenauskultation, Blutdruck- und Herzfrequenzmessung, 12-Kanal-EKG) unverzüglich die Anlage einer Venenverweilkanüle mit Blutentnahme.

Das **EKG** ist fundamental für Diagnosestellung und Risikostratifizierung und muss innerhalb der ersten 10 min nach Ankunft eines Patienten geschrieben und von einem kompetenten Arzt analysiert sein. Es muss bei jeder Schmerzzunahme sowie routinemäßig nach 6–12 h wiederholt werden. Der Vergleich mit früheren EKG des Patienten kann sehr hilfreich sein. Das EKG erlaubt die erste diagnostische und therapeutische Weichenstellung: Bei Vorliegen eines ST-Streckenhebungs-Infarkts (STEMI) muss eine sofortige Reperfusionstherapie angestrebt werden (siehe Kapitel 32.3.3).

Die **Primärtherapie** bei allen Formen des ACS beinhaltet die Schmerzbehandlung (Morphin i.v.) und ggf. Sedierung mit Anxiolyse (z. B. Diazepam), die Behandlung der Übelkeit (z. B. Metoclopramid), die antiischämische Therapie mit Nitraten und Betablockern (z. B. Metoprolol i.v.) sowie die antithrombozytäre (Acetylsalicylsäure i.v. und Clopidogrel p.o.) und gerinnungshemmende Therapie (Antithrombine). Patienten mit Myokardinfarkt sollten

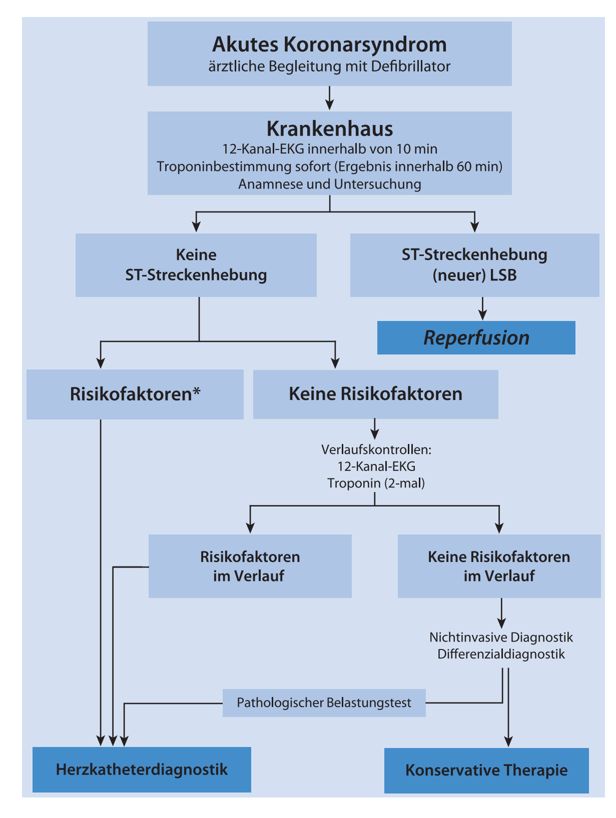



**Abb. 32.4.** Algorithmus zur Vorgehensweise beim akuten Koronarsyndrom. Anhand der Anamnese, des klinischen Eindrucks, des EKG und der Troponinbestimmung sind schnelle Entscheidungen zum therapeutischen Vorgehen möglich. *Risikofaktoren: Therapierefraktäre, persitierende oder wiederholte Angina, frühe Postinfarktangina, klinische Instabilität (hämodynamisch oder rhythmisch), ST-Streckensenkung >0,1 mV in mindestens 2 Ableitungen, Koronarintervention innerhalb der vergangenen 6 Monate, eingeschränkte linksventrikuläre Funktion oder Diabetes mellitus

unter Beachtung absoluter Kontraindikationen (blutendes Ulkus, schwere Allergie) frühest möglich Acetylsalicylsäure (ASS, 250–500 mg i.v.) und Clopidogrel (300–600 mg, bei geplanter frühzeitiger invasiver Strategie 600 mg p.o.) erhalten, unabhängig davon, welche Reperfusionsstrategie (konservativ, invasiv, Fibrinolyse) verfolgt wird (Bassand 2007).

Antithrombine wie unfraktioniertes Heparin oder die als gleichwertige Alternative eingestuften niedermolekularen Heparine werden zusätzlich bei allen Patienten mit akutem Koronarsyndrom appliziert. Neuere Antithrombine wie Bivalirudin oder der Faktor-Xa-Inhibitor Fondaparinux können alternativ eingesetzt werden. Bei geplanter invasiver Strategie stehen unfraktioniertes Heparin, niedermolekulare Heparine bzw. ein direkter Thrombinantagonist zur Auswahl, bei noch ungeklärter

**Tab. 32.7.** Primärtherapie beim akuten Koronarsyndrom

| Medikament | Akuttherapie |
|---|---|
| **Analgesie und Sedierung** | |
| Morphiumsulfat (MSI) | – 5–20 mg (1:10 mit NaCl verdünnt) |
| Diazepam | – 2,5–5 mg i.v. |
| **Antianginöse Therapie** | |
| Nitrate | – Nitrospray 0,8 mg (2 Hübe)<br>– Dauerinfusion 1–5 mg/h i.v. (nach RR) |
| Betablocker | – z. B. Metoprolol 5 mg i.v. |
| Unfraktioniertes Heparin (UFH) | – Bolus: 5.000 IE (70 IE/kgKG) i.v.<br>– Dauerinfusion: ca. 1.000 IE/h i.v. mit Ziel-PTT 50–80 s (1,5- bis 2,5-Faches des Kontrollwerts) |
| Niedermolekulares Heparin (LMWH)[a] | – Enoxaparin 1 mg/kgKG s.c. 2-mal/Tag<br>– Dalteparin 120 IU/kgKG s.c. 2-mal/Tag<br>– Nadroparin 86 IU/kgKG s.c. 2-mal/Tag |
| Direkter Thrombininhibitor | – Bivalirudin: Bolus 0,1 mg/kgKG und Infusion 0,25 mg/kgKG/h i.v.<br>– bei PTCA zusätzlich Bolus 0,5 mg/kgKG und Infusion 1,75 mg/kgKG/h i.v. |
| Faktor-Xa-Inhibitor | – Fondaparinux 2,5 mg/Tag s.c. (nicht bei geplanter invasiver Strategie) |
| **Antithrombozytäre Substanzen** | |
| Acetylsalicylsäure (ASS) | – Bolus: 500 mg i.v. |
| Clopidogrel (Plavix®, Iscover®) | – Initialdosis 300–600 mg p.o. |
| Abciximab[b] (ReoPro®) | – Bolus: 0,25 mg/kgKG i.v.<br>– Dauerinfusion: 0,125 µg/kgKG/min |
| Tirofiban[b] (Aggrastat®) | – Bolus: 10 µg/kgKG i.v.<br>– Dauerinfusion: 0,15 µg/kgKG/min |
| Eptifibatide[a,b] (Integrilin®) | – Bolus: 180 µg/kgKG/min i.v.<br>– Dauerinfusion: 2 µg/kgKG/min |

[a] Cave: Dosisanpassung bei Niereninsuffizienz (gemäß Beipackzettel)!
[b] Nur bei spezieller Indikation

Situation (keine invasive Strategie geplant) kommt auch der Faktor-Xa-Inhibitor Fondaparinux infrage (Tab.32.7; Bassand 2007).

**Betablocker wirken antiischämisch. Ihr frühzeitiger Einsatz bei akutem Koronarsyndrom senkt die Mortalität und wird – sofern keine relevanten Kontraindikationen vorliegen – empfohlen.**

### 32.3.2 Therapie des akuten Koronarsyndroms ohne ST-Hebung

Auf der Basis der klinischen Präsentation in Kombination mit dem 12-Kanal-EKG sollte eine **Risikostratifizierung** erfolgen, die eine rasche Diagnosefindung ermöglicht und das therapeutische Vorgehen festlegt. Patienten mit NSTEMI haben eine vergleichbare intrahospitale Mortalität wie Patienten mit STEMI (Roe et al. 2005). Gerade bei diesen Patienten mit nicht weiterführendem EKG ist folglich die Identifizierung eines Hochrisikokollektivs, das von einer raschen Reperfusionstherapie profitiert, essenziell. Die Risikostratifizierung nach Ausschluss eines STEMI erfolgt anhand verschiedener Kriterien, welche Anamnese, klinische Untersuchung, EKG und biochemische Labormarker berücksichtigen.

**Patienten mit erhöhtem Risiko** für die Entwicklung eines Herzinfarkts oder für Tod innerhalb von 30 Tagen sind durch folgende Risikofaktoren identifizierbar (Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie 2004 und der European Society of Cardiology 2007):

- therapierefraktäre, persistierende oder wiederholte Angina,
- frühe Postinfarktangina,
- klinische Instabilität (hämodynamisch oder rhythmisch),
- ST-Streckensenkung >0,1 mV in mindestens 2 Ableitungen,
- Koronarintervention innerhalb der vergangenen 6 Monate,
- eingeschränkte linksventrikuläre Funktion,
- Diabetes mellitus.

Bei Vorliegen eines dieser Kriterien sollte eine **frühzeitige invasive Herzkatheterdiagnostik** und -intervention erfolgen. Diese Erkenntnis stützt sich auf Ergebnisse der FRISC II, der TACTICS-TIMI 18 und der RITA-3-Studie. Sie belegen einheitlich, dass die invasive Strategie das Risiko für Tod und Myokardinfarkt signifikant senkt (Cannon et al. 2001, Fox et al. 2002, FRISC II investigators 1999, Stone et al. 2002). Die invasive Koronardiagnostik sollte so früh wie möglich, spätestens aber innerhalb von 48–72 h erfolgen. Allerdings sollte sie schon innerhalb der ersten Stunde bei denjenigen Patienten mit ausgeprägter Arhythmie oder hämodynamischer Instabilität bzw. fortgesetzter Ischämie durchgeführt werden (Bassand et al. 2007).

Metaanalysen verschiedener Studien belegen, dass die Applikation eines **GP-IIb-IIIa-Antagonisten** zu einer bestehenden antithrombotischen Therapie mit ASS und Heparin (unfraktioniertes Heparin oder »low molecular weight heparin«) das Auftreten von Tod und Myokardinfarkt in der konservativen Behandlungsphase der Patienten mit instabiler Angina pectoris und positivem Troponin senkt (Hamm et al. 1999, PRISM-PLUS Study Investigators 1998, PURSUIT Trial Investigators 1998).

**! Aufgrund der derzeitigen Studienlage ist die Gabe von Abciximab unmittelbar (<24 h) vor Katheterintervention am besten belegt, während bei mehr als 24-stündigem Intervall Risikopatienten nur die niedermolekularen GPIIb-IIIa-Inhibitoren (Eptifibatide, Tirofiban) erhalten sollten.**

Allerdings zeigt die ISAR-COOL-Studie, dass man die geplante Katheterintervention nicht unter Applikation eines GP-IIb-IIIa-Antagonisten künstlich herauszögern sollte mit dem Vorsatz, die Thrombuslast zu reduzieren: Die Intervention innerhalb von 6 h war der Strategie mit Intervention nach 2- bis 3-tägiger Vorbehandlung überlegen (Neumann et al. 2003). Auch die periinterventionelle Fortführung oder der Beginn einer GP-IIb-IIIa-Rezeptorblockade im Herzkatheterlabor senkte das Risiko von Myokardinfarkt und Tod, wobei auch hier ausschließlich diejenigen Patienten mit erhöhtem Troponin profitierten (CAPTURE Investigators 1997, Hamm et al. 1999; Kastrati et al. 2006).

Als weitere Alternative zum unfaktionierten Heparin etabliert sich derzeit neben LMW-Heparinen (z. B. Enoxaparin) auch der Faktor-Xa-Inhibitor Fondaparinux. Untersuchungen an über 20.000 Patienten belegen eine deutliche Reduktion schwerwiegender Blutungskomplikationen bei vergleichbaren kardiovaskulären Ereignisraten unter Enoxaparin (Mehta 2005). Fondaparinux wird derzeit allerdings nur in Fällen empfohlen, in denen die Entscheidung zum frühzeitigen invasiven Vorgehen noch nicht gefallen ist (Bassand et al. 2007).

**! Das Thienopyridin Clopidogrel muss periinterventionell in einer ausreichenden Aufsättigungsdosis appliziert werden. Hier zeichnet sich derzeit ein klarer Trend zur Erstdosierung mit 600 mg (statt ehemals 300 mg) ab (Hochholzer et al. 2005, Bassand et al. 2007).**

Das ermöglicht einen rascheren Wirkeintritt innerhalb ca. 2 h, insbesondere bei rasch zu erreichender effektiver Thrombozytenhemmung, wie z. B. bei dringlicher Herzkatheterintervention. Clopidogrel ist (nach Ausschluss von Kontraindikationen) fester Bestandteil der Therapie des akuten Koronarsyndroms, unabhängig davon, ob eine invasive oder nichtinvasive Strategie gewählt wird. Es sollte demnach auch Teil der Primärtherapie sein und nicht erst nach Kenntnis der Koronaranatomie verabreicht werden.

Nach derzeitigem Wissensstand überwiegt der Nutzen der frühen Einnahme und Aufsättigung den potenziellen Nachteil einer Blutungskomplikation bei selten notwendigen Akutbypassoperationen. Bei tatsächlicher Indikation zur Bypassoperation kann diese in den meisten Fällen um

5 Tage bis zum Nachlassen der Clopidogrelwirkung aufgeschoben werden (Bassand 2007).

**Patienten mit niedrigem Risiko** für die Entwicklung eines Herzinfarkts oder Tod innerhalb von 30 Tagen tragen keines der oben genannten Risikomerkmale. Sie erhalten wiederholte Kontrolluntersuchungen (12-Kanal-EKG, Troponinbestimmung). Bei erneuter Angina, pathologischem EKG oder positivem Troponinnachweis sollten diese Patienten einer frühzeitigen Herzkatheterdiagnostik zugeführt werden. Bei wiederholt unauffälliger Diagnostik und kontinuierlicher Beschwerdefreiheit empfiehlt sich zunächst eine weiterführende nichtinvasive Diagnostik (inkl. Belastungstest) sowie Differenzialdiagnostik.

## 32.3.3 Therapie des akuten Koronarsyndroms mit ST-Hebung

Das 12-Kanal-EKG ist definitionsgemäß für die Diagnosestellung des ST-Hebungs-Infarkts ausschlaggebend. Es sollte bei Verdacht auf einen inferioren Infarkt um die Ableitung V4 rechts zur Erfassung einer rechtsventrikulären Infarktbeteiligung ergänzt werden sowie bei Verdacht auf einen posterioren Infarkt um die Ableitungen V7–V9. Die Messung von Biomarkern wie Troponin darf die Therapieentscheidung nicht aufhalten. Ein STEMI beruht auf folgenden EKG-Kriterien:

- ST-Streckenhebung von ≥0,1 mV in mindestens 2 zusammenhängenden Extremitätenableitungen *oder*
- ST-Streckenhebung ≥0,2 mV in mindestens 2 zusammenhängenden Brustwandableitungen *oder*
- Linksschenkelblock mit infarkttypischer Symptomatik.

### Spezifische Therapie

Die Basistherapie ist bei allen Formen des ACS gleich bzw. symptomorientiert (▶ Kap. 32.3.1, Primärtherapie). Oberstes Therapieziel beim akuten Koronarsyndrom mit ST-Hebung ist die schnellstmögliche Reperfusion. Diese kann prinzipiell durch Herzkathetertechnik (PCI=perkutane Koronarintervention) oder medikamentös (Fibrinolyse) erreicht werden.

**! Die aktuelle Studienlage belegt klar die Überlegenheit der Herzkatheterintervention gegenüber der Lyse bezüglich des Auftretens schwerwiegender kardiovaskulärer Komplikationen und des Überlebens der Patienten.**

So reduziert die PCI im Vergleich zur Fibrinolyse die Infarktsterblichkeit um 25%, was sich auch im Langzeitverlauf fortsetzt (Grines et al. 2003, Keeley et al. 2003, Weaver et al. 1997, Zahn et al. 2001, Ziijlstra et al. 1999). Der Vorteil der PCI war unabhängig davon, ob die Patienten im aufnehmenden Krankenhaus behandelt wurden oder zur PCI transportiert werden mussten, und ebenso unabhängig von der Wahl des Fibrinolytikums in der Lysegruppe. Der Zeitverlust durch Transport oder Vorbereitung zur PCI sollte nach derzeitigem Wissensstand allerdings nicht 90 min gegenüber einem möglichen Lysebeginn überschreiten (Hamm 2004c).

Für die Fibrinolyse ist eine Senkung der Mortalität nur innerhalb der ersten 12 h nach Symptombeginn nachgewiesen. Danach scheinen die Risiken der Blutungskomplikationen zu überwiegen. Dieses strenge Zeitlimit scheint für die PCI nicht zu gelten (Elad et al. 2002, Stone et al. 1999, Schömig et al. 2005), sodass die Indikation zur PCI auch jenseits der klassischen 12-Stundengrenze bei rezidivierenden oder persistierenden Beschwerden großzügig gestellt werden sollte.

### Primäre perkutane Koronarintervention (PCI)

Die PCI wird unter den oben genannten Bedingungen sowie bei Kontraindikationen für die Fibrinolyse und bei klinischer Instabilität (schlechte Ergebnisse der Fibrinolyse im kardiogenen Schock), aber auch bei unklarer diagnostischer Situation vorrangig empfohlen. Bei mehr als 90% der Patienten mit Myokardinfarkt zeigt die Koronarangiographie ein thrombotisch verschlossenes Gefäß (Hamm 2004b).

In gleicher Sitzung wird mittels eines Führungsdrahts die Verschlussstelle passiert, um anschließend die meist vorbestehende Stenose der in der Regel rupturierten Plaque mittels Ballondilatation und (meist) Stentimplantation zu behandeln. In ca. 90% der Fälle gelingt es, den Blutfluss im betroffenen Gefäß wiederherzustellen.

Als begleitende antithrombotische Therapie sollte mit ASS (250–500 mg i.v.), Clopidogrel (»loading dose« 300–600 mg p.o., Erhaltungsdosis 75 mg/Tag) und Heparin (UFH oder LMWH) behandelt werden. Zusätzlich wird die i.v.-Applikation von Glykoprotein-IIb-IIIa-Inhibitoren empfohlen.

### Fibrinolyse

Die Fibrinolyse hat ihren früheren Stellenwert heute zugunsten der PCI verloren. Sie sollte allerdings erwogen werden, wenn der voraussichtliche Zeitgewinn gegenüber einer Katheterintervention >90 min beträgt. Es bestehen allerdings multiple Kontraindikationen für eine Lyse (◘ Tab. 32.8).

Sind diese ausgeschlossen, muss die Lyse innerhalb von 30 min nach Erstkontakt gestartet werden, unabhängig davon, ob prästationär durch den erstversorgenden Notarzt oder stationär. Die Wirksamkeit lässt schon innerhalb der ersten Stunden exponentiell nach.

**! Die Lyse ist nur bis 12 h nach Symptombeginn nachweislich wirksam und danach kontraindiziert.**

**Tab. 32.8.** Kontraindikationen bei Lysetherapie

| Absolute Kontraindikationen | Relative Kontraindikationen |
|---|---|
| – Schlaganfall in den letzten 6 Monaten (hämorrhagisch zeitunabhängig)<br>– Trauma, OP, Kopfverletzung innerhalb der vergangenen 3 Wochen<br>– Neoplasma oder neurologische ZNS-Erkrankung<br>– Magen-Darm-Blutung innerhalb des letzten Monats<br>– bekannte Blutungsdiathese<br>– disseziierendes Aortenaneurysma | – TIA in den vergangenen 6 Monaten<br>– orale Antikoagulation<br>– Schwangerschaft<br>– nicht komprimierbare Gefäßpunktionen<br>– therapierefraktäre Hypertonie (>180 mmHg)<br>– aktives Ulkusleiden<br>– floride Endokarditis<br>– fortgeschrittene Lebererkrankung<br>– traumatische Reanimationsmaßnahmen |

**Tab. 32.9.** Lysetherapie bei Myokardinfarkt

| | Dosierung | Begleitende Heparintherapie |
|---|---|---|
| Streptokinase (SK) | – 1,5 Mio. I.U. über 30–60 min | – Keine Initialgabe |
| Antistreptase | – 30 E in 5 min. i.v. | – Heparin nach 12–24 h |
| Alteplase (t-PA; z. B. Actilyse) | – 15 mg i.v. Bolus<br>– 0,75 mg/kg über 30 min, dann<br>– 0,5 mg/kg über 60 min i.v.<br>– Gesamtdosis ≤100 mg | – i.v. Bolus: 60 U/kgKG, maximal 4.000 U<br>– i.v. Infusion: 12 U/kg/h über 48 h, max. 1.000 U/h, Ziel-APTT 50–75 s |
| Reteplase (r-PA; z. B. Rapilysin) | – 10 U + 10 U i.v.-Bolus im Abstand von 30 min | – i.v. Bolus: 60 U/kgKG, maximal 5.000 U<br>– i.v. Infusion: 12 U/kgKG/h über 48 h, max. 1.000 U/h, Ziel-APTT 50–75 s |
| Tenecteplase (TNK-t-PA; z. B. Metalyse) | – i.v. Bolus (gewichtsadaptiert) | – i.v. Bolus: 60 U/kgKG, maximal 5.000 U<br>– i.v. Infusion: 12 U/kgKG/h über 48 h, max. 100 U/h, Ziel-APTT 50–75 s |

In Deutschland stehen die Fibrinolytika Streptokinase, Alteplase, Reteplase und Tenecteplase zur Verfügung (Tab. 32.9).

Für Streptokinase spricht der niedrigste Preis, dagegen eine mögliche Antikörperbildung. Für Alteplase (t-PA=»tissue-type plasminogen activator«) spricht die im Vergleich zur Steptokinase geringere Letalität nach 30 Tagen bei allerdings gering erhöhtem Apoplexrisiko (Gusto Investigators 1993). Reteplase (r-PA=»recombinant plasminogen activator«) und Tenecteplase (TNK-Mutante von t-PA) schließlich sind vergleichbar wirksam wie t-PA (GUSTO III Investigators 1997). Durch die verlängerte Wirksamkeit haben Reteplase (Gabe von 2 Boli im Abstand von 30 min) und Tenecteplase (eine Bolusgabe) den Vorteil der einfacheren Applikation, was besonders die prästationäre Handhabung erleichtert.

Ist eine Fibrinolyse, aus welchen Gründen (Kontraindikationen etc.) auch immer, nicht möglich, muss die frühest mögliche Reperfusion mittels PCI angetrebt werden, auch wenn die nächste erreichbare Klinik mit Herzkatheterbereitschaft weiter entfernt ist.

Verschiedene Strategien mittels Fibrinolytika haben sich bisher klinisch nicht ausreichend bewährt: Die Kombination von Fibrinolytika (in halber Dosierung) mit GP-IIb-IIIa-Rezeptorantagonisten kann nach derzeitiger Studienlage aufgrund erhöhter Blutungskomplikationen bei unveränderter Mortalität nicht empfohlen werden (ASSENT-3 Investigators 2001, Topol 2001). Auch die sogenannte »facilitated acute PCI«, die geplante akute Katheterintervention nach vorgeschalteter Lysetherapie, war bisher nicht ausreichend überzeugend (Bonnefoy et al. 2002, Ross et al. 1999).

## 32.3.4 Primär- und Sekundärprophylaxe

### Primärprophylaxe

Erste Maßnahmen zur Primärprävention sind die regelmäßige Beurteilung und Einstellung des individuellen Risikoprofils mit Nikotinverzicht, ausgewogener Ernährung und körperlicher Aktivität (Ziel-BMI 18,5–24,9 kg/m$^2$), Blutdruckeinstellung (Ziel-RR <140/90 mmHg beim Nicht-Diabetiker, <130/80 mmHg beim Diabetiker und bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz) und Blutzuckereinstellung (Ziel-Nüchtern-Glukose <110 mg/dl, Ziel-HbA1c <7%). Bezüglich des Lipoproteinstoffwechsels gilt

**Tab. 32.10.** Risikoadaptierte LDL-Senkung

| Anzahl kardiovaskulärer Risikofaktoren | Ziel-LDL (mg/dl) |
|---|---|
| 0–1 | <160 |
| ≥2 | <130 |
| ≥2- *und* 10-Jahres-Risiko ≥20% | <100 |
| Diabetes mellitus | <100 |

das Hauptaugenmerk dem LDL-Cholesterin. Die Zielwerte orientieren sich an der Zahl der kardiovaskulären Risikofaktoren und dem individuellen Risiko für das Auftreten eines kardiovaskulären Ereignisses innerhalb von 10 Jahren, das mittels spezieller Risikoscores (z. B. Procam-Score) ermittelt werden kann (Pearson et al. 2002, Tab. 32.10).

Falls das LDL im Zielbereich liegt, sind weitere behandlungsbedürftige Parameter die Triglyceride (<150 mg/dl) und das HDL (Männer >40, Frauen >50 mg/dl). Eine antithrombozytäre Therapie mit ASS 100 mg/Tag (alternativ Clopidogrel 75 mg/Tag bei Kontraindikationen für ASS) wird derzeit zur reinen Primärprophylaxe nur bei Personen mit ausgeprägtem Risikoscore (10-Jahres-Risiko für das Auftreten eines kardiovaskulären Ereignisses >10%) empfohlen, so z. B. Diabetiker >40 Jahren mit mindestens einem zusätzlichen Risikofaktor (Buse 2007). Außerdem sollten alle Patienten mit stabiler koronarer Herzerkrankung zur Prophylaxe eines akuten Koronarsyndroms ASS einnehmen (Pearson et al. 2002).

### Sekundärprophylaxe

Ziel der Sekundärprophylaxe nach akutem Koronarsyndrom ist es,

- das Fortschreiten der koronaren Herzkrankheit zu verzögern bzw. aufzuhalten,
- ein erneutes kardiovaskuläres Ereignis zu vermeiden,
- bei eingeschränkter linksventrikulärer Funktion ungünstige Umbauvorgänge des Myokards (»remodeling«) zu verhindern.

Hierzu muss durch intensive Patientenaufklärung und -schulung eine Verbesserung und Einstellung des kardiovaskulären Risikoprofils erfolgen: Nikotinverzicht, Gewichtsabnahme durch gesunde Ernährung und körperliche Aktivität (Ziel-BMI 18,5–24,9 kg/m$^2$), Blutdruckeinstellung (Ziel-RR <140/90 beim Nicht-Diabetiker, <130/80 mmHg beim Diabetiker und Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz), Blutzuckereinstellung und Einstellung des Lipoproteinstoffwechsels (Ziel-LDL <100 mg/dl) sind Grundvorausetzung für alle weiteren Maßnahmen. Die Einstellung des Cholesterins erfolgt durch Kombination diätetischer Maßnahmen, körperlicher Aktivität und medikamentös mittels Statinen und ggf. zusätzlichen Cholesterinsenkern.

**Statine.** Sie sollten bei allen Patienten mit ACS frühest möglich eingesetzt werden. Man weiß, dass sie auch unabhängig vom jeweiligen Cholesterinwert am ehesten durch ihre multiplen pleiotropen Wirkungen (antiinflammatorisch, antiproliferativ, dadurch »plaquestabilisierend«) die Prognose der Patienten verbessern.

**Antithrombozytäre Therapie.** Nach akutem Koronarsyndrom wird unabhängig von der gewählten Akuttherapie (invasiv bzw. nichtinvasiv) eine 12-monatige duale Therapie mit ASS und Clopidogrel empfohlen, gefolgt von einer dauerhaften Monotherapie mit ASS (bei Kontraindikationen für ASS alternativ Clopidogrel).

> **! Für ASS erscheint derzeit das Verhältnis zwischen erwünschter antithrombozytärer Wirkung und Blutungskomplikationen bei 100 mg/Tag am günstigsten (Bassand et al. 2007). Der ADP-Antagonist Clopidogrel wird mit 75 mg/Tag empfohlen.**

Ob die Dosis insbesondere bei Patienten nach koronarer Stentimplantation bei sogenannten »Clopidogrel low-respondern« erhöht werden sollte, ist derzeit in Diskussion. Darüber hinaus sind aktuell ADP-Rezeptorinhibitoren der dritten Generation in klinischer Erprobung (z. B. Prasugrel, Cangrelor, AZD6140).

**Betablocker.** Alle Patienten mit ACS sollten dauerhaft Betablocker einnehmen, wenn keine relevanten Kontraindikationen vorliegen (Smith et al. 2006). Insbesondere bei Patienten nach Myokardinfarkt mit reduzierter Funktion des linken Ventrikels senken sie nachweislich die Mortalität.

**ACE-Hemmer.** Sie vermindern das myokardiale Remodeling und senken die Mortalität bei Patienten mit reduzierter linksventrikulärer Funktion. Sie sollten bei allen Patienten mit ACS und eingeschränkter LV-Funktion am 1. Tag begonnen werden. Alternativ (bei Unverträglichkeit gegen ACE-Hemmer) können Angiotensin-II-Rezeptorantagonisten eingesetzt werden.

**Aldosteronantagonisten.** Spironolacton und Eplerenon verbessern die Prognose bei Patienten mit Herzinsuffizienz (NYHA III–IV) und bei Patienten nach Myokardinfarkt mit reduzierter LV-Funktion, wenn sie zusätzlich zu Betablockern und ACE-Hemmern eingenommen werden. Sie sollten bei Vorliegen einer reduzierten Funktion des linken Ventrikels bei Patienten mit Herzinsuffizienz oder Diabetes mellitus erwogen werden. Eine relevante Niereninsuffizienz (Kreatinin bei Männern >2,5 mg/dl, bei Frauen

>2,0 mg/dl) und/oder Neigung zu Hyperkaliämie müssen ausgeschlossen sein. Engmaschige Kaliumkontrollen unter Therapie sind unerlässlich.

## Literatur


Antman EM, Cohen M, Radley D et al. (1999) Assessment of the treatment effect of enoxaparin for unstable angina/non-Q-wave myocardial infarction. TIMI 11B-ESSENCE meta-analysis. Circulation 100: 1602–1608

ASSENT (Assessment of the Safety and Efficacy of a New Thrombolytic) Investigators (1999) Single-bolus tenecteplase compared with front-loaded alteplase in acute myocardial infarction: the ASSENT-2 double-blind randomised trial. Lancet 354: 716–722

ASSENT-3 (Assessment of the Safety and Efficacy of a New Thrombolytic Regimen) investigators (2001) Efficacy and safety of tenecteplase in combination with enoxaparin, abciximab, or unfractionated heparin: the ASSENT-3 randomised trial in acute myocardial infarction. Lancet 358: 605–613

Bassand JP, Hamm CW, Ardissino Det al.; Task Force for Diagnosis and Treatment of Non-ST-Segment Elevation Acute Coronary Syndromes of European Society of Cardiology (2007).The European Society of Cardiology Task Force Guidelines for diagnosis and treatment of non-ST-segment elevation acute coronary syndromes. Eur Heart J 28(13): 1598–660

Bonnefoy E, Lapostolle F, Leizorovicz A, Steg G, McFadden EP, Dubien PY, Cattan S, Boullenger E, Machecourt J (2002) Primary angioplasty versus prehospital fibrinolysis in acute myocardial infarction: a randomised study. Comparison of Angioplasty and Prehospital Thrombolysis in Acute Myocardial Infarction (CAP-TIM) study group. Lancet 360: 825–829

Buse JB, Ginsberg HN, Bakris GL et al. (2007) Primary Prevention of Cardiovascular Diseases in People With Diabetes Mellitus: A Scientific Statement From the American Heart Association and the American Diabetes Association. Circulation 115: 114–126

Cannon CP, Weintraub WS, Demopoulos LA et al.; for the TACTICS investigators (2001) Comparisons of early invasive and conservative strategies in patients with unstable coronary syndroms treated with the glycoprotein IIb/IIIa inhibitor tirofiban. N Engl J Med 344: 1879–1887

CAPTURE Investigators (1997) Randomised placebo-controlled trial of abciximab before and during coronary intervention in refractory unstable angina: the CAPTURE Study. Lancet 349: 1429–1435

Chen ZM, Jiang, LX, Chen YP, Xie JX, Pan HC, Peto R, Collins R, Liu LS (2005) Addition of clopidogrel to aspirin in 45.852 patients with acute myocardial infarction: randomised placebo-controlled trial. Lancet 366: 1607–1621

Elad Y, French WJ, Shavelle DM et al. (2002) Primary angioplasty and selection bias inpatients presenting late (>12 h) after onset of chest pain and ST-elevation myocardial infarction. J Am Coll Cardiol 39: 826–833

Fox KAA, Poole-Wilson PA, Henderson RA et al. (2002) Interventional versus conservative treatment for patients with unstable angina or non-ST-elevation myocardial infarction: the British Heart Foundation RITA 3 randomised trial. Lancet 360: 743–751

FRISC II investigators (1999) Invasive compared with non-invasive treatment in unstable coronary-artery disease: FRISC II prospective randomised multicentre study. Fragmin and Fast Revascularisation during Instability in Coronary artery disease Investigators. Lancet 354: 708–715

Grines CL, Patel A, Zijlstra F et al. (2003) Primary coronary angioplasty compared with intravenous thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: six-month follow up and analysis of individual patient data from randomized trials. Am Heart J 145: 47–57

GUSTO III (Global Use of Strategies to Open Occluded Coronary Arteries) Investigators (1997) A comparsion of reteplase with alteplase for acute myocardial infarction. N Engl J Med 337: 1118–1123

GUSTO Investigators (1993) An international randomized trial comparing four thrombolytic strategies for acute myocardial infarction. N Engl J Med 329: 673–682

Hamm CW (2004a) Akutes Koronarsyndrom. Z Kardiol 93: 72–90

Hamm CW (2004b) Leitlinien: Akutes Koronarsyndrom (ACS). Teil 1: ACS ohne persitierende ST-Hebung. Z Kardiol 93: 72–90

Hamm CW (2004c) Leitlinien: Akutes Koronarsyndrom (ACS). Teil 2: Akutes Koronarsyndrom mit ST-Hebung. Z Kardiol 93: 324–341

Hamm CW, Heeschen C, Goldmann B et al. (1999) Benefit of abciximab in patients with refractory unstable angina in relation to serum troponin T levels. N Engl J Med 340: 1623–162

Hochholzer W, Trenk D, Frundi D, Blanke P, Fischer B, Andris K, Bestehorn HP, Buttner HJ, Neumann FJ (2005) Time dependence of platelet inhibition after a 600-mg loading dose of clopidogrel in a large, unselected cohort of candidates for percutaneous coronary intervention. Circulation 111(20): 2560–4

Kalla K, Christ G, Karnik R et al. (2006) Implementation of guidelines improves the standard of care: the Viennese registry on reperfusion strategies in ST-elevation myocardial infarction (Vienna STEMI registry). Circulation 113: 2398–2405

Kastrati A, Mehilli J, Neumann F-J et al. (2006) Abciximab in Patients With Acute Coronary Syndromes Undergoing Percutaneous Coronary Intervention After Clopidogrel Pretreatment. The ISAR-REACT 2 Randomized Trial. JAMA 295: 1531–1538

Keeley EC, Boura JA, Grines CL (2003) Primary angioplasty versus intravenous thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: a quantitative review of 23 randomised trials. Lancet 361: 13–20

Mehta SR (2005) Efficacy and safety of fondaparinux compared to enoxaparin in 20.000 high risk patients with ACS without ST-elevation: the OASIS 5 Michelangelo programme. Presented at the European Society of Cardiology congress; September 4.–7. 2005; Stockholm, Sweden

Neumann F-J, Kastrati A, Pogatsa-Murray G, Behilli J, Bollwein H, Bestehorn H-P, Schmitt C, Seyfarth M, Dirschinger J, Schömig A (2003) Evaluation of prolonged antithrombotic pretreatment (»cooling-off« strategy) before intervention in patients with unstable coronary syndromes. JAMA 290: 1593–1599

Pearson TA, Blair SN, Daniels SR et al. (2002) AHA Guidelines for Primary Prvention of Cardiovascular Disease and Stroke: 2002 Update: Consensus Panel Guide to Comprehensive Risk Reduction for Adult Patients Without Coronary or Other Atherosclerotic Vascular Diseases. Circulation 106: 388–391

PRISM-PLUS Study Investigators (1998) Inhibition of the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor with tirofiban in unstable angina and non-Q-wave myocardial infarction. Platelet Receptor Inhibition in Ischemic Syndrome Management in Patients Limited by Unstable Signs and Symptoms (PRISM-PLUS) Study Investigators. N Engl J Med 338(21): 1488–97

PURSUIT Trial Investigators (1998) Inhibition of platelet glycoprotein IIb/IIIa with eptifibatide in patients with acute coronary syndromes. N Engl J Med 339(7): 436–43

Roe MT, Parsons LS, Jr. Pollack CV et al. (2005) Quality of care by classification of myocardial infarction: treatment patterns for ST-Segment elevation vs non-ST-Segment elevation myocardial infarction. Arch Intern Med 165: 1630–1636

Ross AM, Coyne KS, Reiner JS et al. (1999) A randomized trial comparing primary angioplasty with a strategy of short-acting thrombolysis and immediate planned rescue angioplasty in acute myocardial infarction: the PACT trial. PACT investigators. Plasminogen-activator Angioplasty Compatibility Trial. J AM Coll Cardiol 34: 1954–1962

Schömig A, Mehilli J, Antoniucci D, et al.; for the Beyond 12 hours Reperfusion AlternatiVe Evaluation (BRAVE-2) Trial Investigators (2005) Mechanical reperfusion in patients with acute myocardial infarction presenting more than 12 hours from symptom onset: a randomized controlled trial. JAMA 293(23): 2865–72
Smith SC, Allen J, Blair SN et al. (2006) AHA/ACC Guidelines for Secondary Prevention for Patients With Coronary and Other Atherosclerotic Vascular Disease: 2006 Update: Endorsed by the National Heart, Lung, and Blood Institute. Circulation 113: 2363–2372
Stone GW, Brodie BR, Griffin JJ et al. (1999) Clinical and aniographic follow-up after primary stenting in acute myocardial infarction: the primary angioplasty in myocardial infarction (PAMI) stent pilot trial. Circulation 99: 1548–1554
Stone GW, Moliterno DJ, Bertrand M et al. (2002) Impact of Clinical syndrome acuity on the differential response to 2 glycoprotein IIb/IIIa inhibitors in patients undergoind coronary stenting. Circulation 105: 2347–2354
Topol EJ; The GUSTO V investigators (2001) Reperfusion therapy for acute myocardial infarction with fibrinolytic therapy or combination reduced fibrinolytic therapy and platelet glycoprotein IIb/IIIa inhibitoren: the GUSTO V randomised trial. Lancet 357: 1905–1914
Weaver WD, Simes RJ, Betriu A et al. (1997) Comparison of primary coronary angioplasty and intravenous thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: a quantitative review: JAMA 278: 2093–2098
Zahn R, Schile R, Schneider S et al. (2001) Primary angioplasty versus no reperfusion therapy in patients with acute myocardial infarction and a prehospital delay of >12–24 hours: results from the pooled data of the maximal individual therapy in acute myocardial infarction (MITRA) registry and the myocardial infarction registry (MIR). J Invasive Cardiol 13: 367–372
Zijlstra F, de Boer MJ, Hoorntje JC, Reiffers S, Reiber JH, Suryapranata H (1993) A comparison of immediate coronary angioplasty with intravenous streptokinase in acute myocardial infarction. N Engl J Med 328: 680–684

## 32.4 Periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK)

*J. Stock, B. Balletshofer*



### Einleitung

Die periphere arterielle Verschlusskrankheit umfasst stenosierende und okkludierende Veränderungen der Aorta und der extremitätenversorgenden Arterien. Die mit >90% häufigste Lokalisationsform ist die periphere arterielle Verschlusskrankheit der unteren Extremitäten (pAVK).

Die überwiegende Zahl der Patienten mit einer pAVK sind asymptomatisch und nur durch sensitive, nichtinvasive diagnostische Verfahren rechtzeitig zu diagnostizieren. Epidemiologische Studien belegen, dass nahezu jede fünfte Person über 65 Jahre eine pAVK in den unterschiedlichen Stadien aufweist. Aufgrund des signifikant erhöhten kardiovaskulären Risikos ist die Frühdiagnose von entscheidender Bedeutung, da wiederum nahezu jeder zweite Betroffene an einer weiteren kardio- oder zerebrovaskulären Manifestation der Atherosklerose leidet.

Symptomatische Patienten berichten meist über eine primär funktionelle Beeinträchtigung der betroffenen Extremität im Sinne eines belastungsabhängigen Extremitätenschmerzes. Erst in fortgeschrittenen Stadien bestehen zusätzlich Schmerzen unter Ruhebedingungen oder trophische Störungen. Da es sich bei der Atherosklerose um eine systemische Erkrankung handelt, zeigt sich mit fortschreitendem Stadium der pAVK auch ein markanter Anstieg der vaskulären Komorbidität.

Die Diagnose kann anhand einfacher Mittel wie Anamnese, körperlicher Untersuchung und nichtinvasiven Tests wie der (bidirektionalen) Dopplersonographie gestellt werden. Zusätzliche laborchemische Untersuchungen dienen der Risikostratifikation und Therapieplanung. Die Basis jeder Therapie unabhängig des Stadiums bildet neben der Risikofaktorintervention die Thrombozytenfunktionshemmung. In fortgeschrittenen Stadien (relevante Einschränkung der Gehstrecke, Ruheschmerz, Ulkus oder Gangrän) stehen interventionelle (Angioplastie) und operative Therapieverfahren zur Verfügung.

### 32.4.1 Definition

Zur peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (pAVK) zählen nicht nur stenosierende oder okkludierende Prozesse der Extremitätengefäße, sondern auch stenosierende Aortenprozesse (Definition der Deutschen Gesellschaft für Angiologie). In der internationalen Literatur werden zum Teil auch stenosierende Veränderungen der hirnversorgenden Arterien unter den peripheren Durchblutungsstörungen aufgeführt, sodass hier keine streng vereinheitlichte Definition vorliegt. Im Bereich der Extremitäten sind die Gefäße der Beine weit häufiger betroffen als die der oberen Extremitäten.

**! Bei Erstvorstellung des Patienten muss unterschieden werden, ob es sich um eine chronische oder eine akute pAVK handelt, da letztere eine rasche Diagnostik und sofortige Notfalltherapie erfordert.**

### 32.4.2 Epidemiologie

Die Prävalenz der chronischen pAVK variiert je nach untersuchter Altersgruppe. Sie liegt global betrachtet für Frauen und Männer zwischen 50 und 70 Jahren bei 3–10%. In der Altersgruppe über 65 Jahre liegt die Prävalenz in Deutschland bei Männern bei 19,8% und bei Frauen bei 16,8% (Diehm et al. 2004). Aus Erhebungen mit strukturierten Fragebögen ist bekannt, dass nur jeder 10. Patient die typische Symptomatik einer pAVK aufweist, sodass ohne ein entsprechendes Screening ein Großteil der Patienten nicht diagnostiziert und somit unterversorgt bleibt.

### 32.4.3 Pathophysiologie

Die Perfusionsstörung der betroffenen Extremität wird in der Regel durch eine Verengung des Gefäßlumens bzw. den Verschluss einer oder mehrerer versorgender Arterien verursacht. Als Ursache kommen neben der klassischen stenosierenden Atherosklerose luminale Fehlbildungen (z. B. fibromuskuläre Dysplasie), extraluminale paravasale Effekte (sog. arterielle Kompressionssyndrome) sowie entzündliche, traumatische und embolische Gefäßverschlüsse infrage.

Distal des betroffenen Gefäßabschnitts kommt es durch den verringerten Perfusionsdruck zu einer erhöhten peripheren Sauerstoffausschöpfung (Zyanose) bzw. bei kompletter Ischämie zur kalten, blassen Extremität. Die Beschwerden sind abhängig vom Ausmaß der Minderdurchblutung und der Möglichkeit des betroffenen Bereichs, über Kollateralgefäße versorgt zu werden.

Die akute pAVK führt aufgrund der fehlenden bzw. nicht ausreichenden Kollateralisierung und der dadurch distal nicht suffizienten Blutversorgung meist rasch zu einer ausgeprägten und akuten Symptomatik.

Bei der chronischen pAVK führt zunächst erst ein erhöhter Sauerstoffbedarf unter Belastung zur Ischämiereaktion und den damit wahrgenommenen Schmerzen (Claudicatio intermittens). Trophische Störungen werden in diesem Stadium nur durch zusätzliche äußere Traumata (z. B. chronische Druck- oder Fehlbelastung) hervorgerufen. Im dekompensierten Stadium III und IV nach Fontaine (Tab. 32.11) reicht bereits unter Ruhebedingungen die Perfusion nicht aus, den Grundbedarf des zu versorgenden Gewebes zu decken. Es kommt zu Ruheschmerz und Gewebsuntergang (Nekrose, Gangrän).

### 32.4.4 Ätiologie

Bei der chronischen pAVK der distalen Extremitäten stellt insbesondere im fortgeschrittenen Lebensalter die Atherosklerose die Hauptursache dar. Weitere Ursachen sind mechanische oder entzündliche Gefäßveränderungen und Malformationen (siehe Übersicht). Für die akute pAVK sind Embolien (80%) und lokale atherothrombotische Gefäßverschlüsse die Hauptursache.

**Ätiologie der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit**

- Atherosklerose (80–90%)
- arterielle Kompressionssyndrome (z. B. popliteales Entrapment-Syndrom oder »thoracic outlet syndrom« durch Knochenanomalien, Exostosen, Muskelhypertrophien, atypische Muskelzüge oder Bänder, Tumoren, Zysten, Abszess, postradiogen)
- dilatative Arteriopathie (Aneurysmata, z. B. im Bereich der Extremitäten häufig als Poplitealaneurysmata mit krural embolischen Gefäßverschlüssen)
- Thrombangiitis obliterans
- fibromuskuläre Dysplasie
- Vaskulitis (Riesenzellarteritis, Takayasu-Arteritis)
- zystische Adventitiadegeneration
- Gefäßtrauma
- Raynaud-Syndrom (funktionelle »primäre« oder morphologische »sekundäre« Durchblutungsstörungen der Finger und/oder Zehen)
- Embolien kardialer Genese
- Cholesterinembolien

Unter den kardiovaskulären Risikofaktoren hat das Zigarettenrauchen und das metabolische Syndrom die größte Bedeutung.

**Nikotinabusus.** In einem Beobachtungszeitraum von 5 Jahren ist die Inzidenz einer pAVK bei Rauchern gegenüber Nichtrauchern um ca. das 3-fache erhöht. Dabei besteht eine klare Abhängigkeit von der Höhe des Nikotinkonsums: die 9-Jahres-Inzidenz beträgt 1,4% bei bis zu 10 Zigaretten/Tag, 2,0% bei bis zu 20 Zigaretten/Tag und 2,3% bei über 20 Zigaretten/Tag. Auch für die Prognose nach revaskularisierender Therapie spielt das Rauchen eine entscheidende Rolle. Die Verschlussrate von Bypässen der unteren Extremität ist bei fortgeführtem Rauchen 3-mal höher als bei Patienten, die das Rauchen aufgeben (Willigendael et al. 2005).

**Diabetes mellitus.** Mit zunehmender Dauer des Diabetes steigt das Risiko für eine pAVK deutlich an. Bei einer Diabetesdauer von über 10 Jahren sind bis zu 60% der Diabetiker betroffen (Adler et al. 2002). Jeder Anstieg des HbA1c um 1% erhöht das pAVK-Risiko um 26% (95% Konfidenzintervall 12–46; Selvin et al. 2004). Bedeutsam ist auch die Erkenntnis der letzten Jahre, dass bereits bei einer prädiabetischen Insulinresistenz das Risiko für eine pAVK um 40–50% erhöht ist (Muntner et al. 2005). Aufgrund der häufig mit Diabetes mellitus vergesellschafteten sensiblen Neuropathie und der schlechteren Infektabwehr sind Patienten mit einer pAVK und Diabetes mellitus 5- bis 10-mal häufiger von einer Amputation betroffen.

**Arterielle Hypertonie.** In der Framingham-Heart-Studie wiesen Patienten abhängig von der Höhe der Blutdruckwerte ein um das 2,5- bis 4-fache Risiko einer pAVK auf (Kannel u. McGee 1985).

**Hyperlipidämie/Dyslipoproteinämie.** Erhöhte Gesamt- und LDL-Cholesterinwerte, ein erhöhtes Lipoprotein a, Apolipoprotein $A_1$ und $B_{100}$ sowie niedrige HDL-Cholesterinwerte sind mit einem erhöhten pAVK-Risiko verbunden (Senti et al. 1992). Den stärksten Prädiktor für die Entwicklung einer pAVK stellt der Quotient von Gesamtcholesterin/HDL-Cholesterin dar (Ridker et al. 2001).

**Hyperhomocysteinämie.** Über die vermehrte Bildung reaktiver Sauerstoffspezies und damit den verbundenen vermehrten oxidativen Stress resultieren Störungen der Endothelfunktion (NO-Bioverfügbarkeit) sowie ein prokoagulatorischer Status (Reduktion von Thrombomodulin und Protein-C-Aktivität, Induktion der Plättchenaggregation und -adhäsionsneigung). Ein weiterer Mechanismus sind proliferationssteigernde Effekte auf die glatte Gefäßmuskulatur und die Aktivierung redoxsensitiver Matrixmetalloproteinasen. Patienten mit Hyperhomocysteinämie weisen einen bevorzugten Befall der aortoiliakalen Gefäßabschnitte auf.

**Molekulargenetische Faktoren.** Hereditäre Risikofaktoren, die das pAVK-Risiko signifikant erhöhen, sind mit Ausnahme der Lp(a)-Erhöhung nicht bekannt. Für venöse Thrombosen spielen v. a. Mutationen im Faktor-II-Gen (G20210A) sowie im Faktor-V-Gen (R506Q) eine Rolle. Ein sicherer Beleg für eine Bedeutung im arteriellen Schenkel steht aus. Während für die Prothrombinmutation kein Zusammenhang zu bestehen scheint, könnte ein schwacher Zusammenhang für Faktor-V-Genmutationen bestehen. Insbesondere für die Offenheitsrate nach Revaskularisationen bei pAVK könnte der Nachweis einer Faktor-V-Genmutation Bedeutung erlangen, allerdings ist die Studienlage auch hier bis dato nicht belegend.

**Inflammationsmarker.** Neben anderen Studien untersuchte die Edinburgh Artery Study longitudinal über 17 Jahre Inflammationsmarker und deren prädiktive Aussagekraft für die Entwicklung einer pAVK. Nach Adjustierung für die klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren zeigte sich unter den Inflammationsmarkern lediglich für das C-reaktive Protein ein unabhängiger prädiktiver Zusammenhang. Il-6 und »intracellular adhesion molecule 1« (ICAM-1) zeigten nur einen schwachen, von den traditionellen Risikofaktoren nicht unabhängigen Zusammenhang (Tzoulaki et al. 2007). Die Bedeutung von E-Selectin ist außerhalb von Grundlagenstudien noch nicht hinreichend untersucht.

**Rheologische und hämostaseologische Marker.** Fibrinogen und Hämatokrit sind unabhängige, longitudinal untersuchte Risikofaktoren für eine pAVK, allerdings ist die zusätzliche Aussagekraft über die traditionellen Risikofaktoren hinaus limitiert (Tzoulaki et al. 2007). Für die Bestimmung der D-Dimere als prädiktiver Faktor für die Entwicklung einer pAVK gibt es keine hinreichend positiven Studienbelege. Die bisherige Datenlage spricht eher gegen einen bedeutsamen Zusammenhang. Für Protein-C-, Protein-S-, AT- und PAI-1-Spiegel existieren zur pAVK nur wenige Daten. In der ARIC-Studie konnte querschnittanalytisch eine inverse Relation für Protein C und der Prävalenz einer pAVK nachgewiesen werden (Salomaa et al. 2001).

### 32.4.5 Klinik

Die pAVK der unteren Extremitäten manifestiert sich typischerweise als belastungsabhängiger Extremitätenschmerz – je nach stenosiertem Gefäß als Unterschenkel-, Oberschenkel- oder Glutealclaudicatio. In Abhängigkeit des vorliegenden Kollateralisierungsgrades und der zugrunde liegenden Ursache der Durchblutungsstörung ist die Symptomatik mehr oder weniger akut. Der embolische Extremitätenverschluss im Sinne der akuten pAVK ist in der Regel mit sehr starken, plötzlich einsetzenden Schmerzen ver-

bunden und erfordert als potenziell lebensbedrohliche Situation (Myolyse, Hyperkaliämie, Azidose) eine sofortige Diagnose und Therapie in einem Zentrum mit entsprechender Erfahrung.

### Stadieneinteilung der chronischen pAVK

Zur Einteilung der chronischen pAVK hat sich im klinischen Alltag die Stadieneinteilung nach Fontaine (n. F.) durchgesetzt. Sie wurde später von Rutherford modifiziert und um objektive hämodynamische Kriterien erweitert (Rutherford et al. 1997; Tab. 32.11). Die Einteilung orientiert sich primär klinisch am Beschwerdebild des Patienten.

Patienten, die im Stadium I oder II n. F. durch ein externes Trauma eine Hautläsion erleiden, werden nicht in ein höheres Stadium eingeordnet, sondern als kompliziertes Stadium II bezeichnet.

Eine Eingruppierung in das Stadium III und IV setzt die dazugehörigen Symptome für die Dauer von zumindest 2 Wochen voraus.

Prädilektionsstellen ischämiebedingter trophischer Hautschäden sind: Zehenspitzen, Interdigitalraum, Periinguinalbereich, lateraler Fußrand auf Höhe der Großzehen- bzw. Kleinzehengrundgelenke, Ferse und die Knöchelregion.

Weitere Kriterien einer kritischen Ischämie sind ein absoluter Perfusionsdruck <50 (–70) mmHg bzw. ein transkutaner Sauerstoffpartialdruck (TcpO2) <30 mmHg

### Stadieneinteilung der akuten pAVK

Bei der akuten pAVK besteht die typische Symptomatik in der Regel aus dem »akut schmerzhaften, kalten, blassen Bein«. Als Merkregel kann die 6-P-Regel nach Pratt gelten (siehe Übersicht). Die klinische Einteilung erfolgt nach Rutherford in 4 Stadien (Tab. 32.12).

**6-P-Regel nach Pratt**

- Pain (Schmerz)
- Pulslessness (Pulslosigkeit)
- Paleness (Blässe)
- Paresthesia (Gefühlsstörung)
- Paralysis (Bewegungsstörung/ Lähmung)
- Prostration (Schock – vitale Gefährdung durch Freisetzung nekrosebedingter Toxine/ Myolyse)



**Tab. 32.11.** Stadieneinteilung der chronischen pAVK

| Fontaine-Stadien | Klinische Beschreibung | Rutherford-Klassifikation | Klinische Beschreibung | Objektive Kriterien |
|---|---|---|---|---|
| I | Asymptomatisch | 0 | Asymptomatisch | – Normale Laufbandbelastung<br>– normaler Hyperämietest |
| IIa | Schmerzfreie Gehstrecke >200 m | 1 | Geringe Claudicatio intermittens | – Laufband: 5 min möglich<br>– aKD nach Belastung: >50 mmHg, aber mind. 20 mmHg niedriger als Ruhewerte |
| | | 2 | Geringe Claudicatio intermittens | Zwischen Rutherford-Klasse 1 und 3 |
| IIb | Schmerzfreie Gehstrecke <200 m | 3 | Schwere Claudicatio intermittens | – Laufband: 5 min nicht möglich<br>– aKD nach Belastung: <50 mmHg |
| Kompliziertes Stadium II | Läsionen bei hämodynamisch nicht kritischer Extremitätenischämie | | | |
| III | Ruheschmerz | 4 | Ruheschmerz | – aKD≤40 mmHg *und/oder*<br>– aGD≤30 mmHg *oder*<br>– schwach pulsatile oder flache GZO |
| IV | Ulkus, Nekrose, Gangrän | 5 | Distale trophische Läsionen | – aKD≤60 mmHg *und/oder*<br>– aGD≤30 mmHg *oder*<br>– schwach pulsatile oder flache GZO |
| | | 6 | Über das metatarsale Niveau reichende trophische Läsionen | |

*aKD* Knöchelarteriendruck; *aGD* Großzehenarteriendruck; *GZO* Großzehenoszillographie

**Tab. 32.12.** Stadieneinteilung der akuten Ischämie nach Rutherford

| Stadieneinteilung | | Erklärung/Prognose | Befund | | Dopplersignal | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Gefühlsstörungen | Bewegungsstörungen | Arteriell | Venös |
| I – funktionsfähig | | Nicht sofort gefährdet | Keine | Keine | Hörbar | Hörbar |
| II – bedroht | Marginal | Extremitätenerhalt bei zeitgerechter Herstellung der arteriellen Perfusion | Minimal (Zehen) oder keine | Keine | Nicht hörbar | Hörbar |
| | Unmittelbar | Extremitätenerhalt bei sofortiger Herstellung der arteriellen Perfusion | Zehenüberschreitend mit Ruheschmerz | Leicht bis mittel | Nicht hörbar | Hörbar |
| III – irreversibel | | Nekrose oder irreversible Nervenschädigung | Ausgedehnter Sensibilitätsverlust | Lähmung (Rigor) | Nicht hörbar | Nicht hörbar |

## 32.4.6 Differenzialdiagnose des Extremitätenschmerzes

- Arthrose des Hüft- (Coxarthrose) oder des Kniegelenks (Gonarthrose)
- lumbale Spinalkanalstenose (degenerative oder angeborene Enge des Spinalkanals), Diskusprotrusionen, Pseudospondylolisthesis – sogenannte »Claudicatio spinalis«
- radikuläre Schmerzen bei Nervenwurzelirritationen
- Polyneuropathie
- tiefe Beinvenenthrombose
- Baker-Zyste, rupturierte Baker-Zyste
- Hämatom
- Erythromelalgie: »Schmerzhafte Rötung« der Hände/Füße, vorwiegend bei Polyneuropathie, Polyzythämie

## 32.4.7 Diagnostik

Die Diagnose kann zuverlässig anhand einfacher Mittel wie Anamnese, körperlicher Untersuchung und nichtinvasiven Tests wie Laufbandergometrie, bidirektionaler Dopplersonographie einschließlich Knöchel-Arm-Index (KAI), Pulsoszillographie und (farbkodierter) Duplexsonographie gestellt werden.

Ein Screening auf eine pAVK sollte durchgeführt werden bei:

- Patienten <50 Jahre mit
  - Diabetes mellitus und zumindest einem weiteren kardiovaskulären Risikofaktor,
  - abnormalem peripherem Pulsstatus oder Blutdruckseitendifferenz,
- Patienten zwischen 50 und 69 Jahren mit Diabetes mellitus oder Nikotinabusus in der Vorgeschichte
- alle Patienten >70 Jahre mit
  - belastungsabhängigen Beschwerden der Extremitäten oder Ruheschmerz,
  - bereits bestehender anderer atherosklerotischer Manifestation,
  - einem 10-Jahres-Risiko für ein kardiovaskuläres Ereignis >10% (Score: www.escardio.org).

### Körperliche Untersuchung

Zur Basisdiagnostik gehören die Inspektion hinsichtlich trophischer Störungen der Haut und Hautanhangsgebilde, z. B. Pergamenthaut, Verlust der Sekundärbehaarung, Nagelwachstumsstörungen, Druckstellen, Nekrosen, Infektionszeichen.

Der Pulsstatus wird von peripher nach zentral erhoben. Die Sensitivität der Pulspalpation der Beingefäße liegt bei 76,9%, die Spezifität bei 86,4%. Die Auskultation erfolgt entlang der großen Gefäßregionen: im Bereich der Beingefäße ab der A. poplitea nach proximal, an den oberen Extremitäten ab der A. brachialis nach proximal.

### Arterielle Funktionstests

**Ratschow-Lagerungsprobe.** Als Ratschow-Lagerungsprobe wird die seitenvergleichende Hautinspektion im Liegen bei senkrecht angehobenen Beinen mit gleichzeitigen Extensions- und Flexionsbewegungen der Füße über 2 min bezeichnet. Beurteilt werden auch Lokalisation und Seite der unter diesem Manöver auftretenden Schmerzsymptomatik.

**Allen-I-Test.** Diagnostik auf Unterarmarterienverschlüsse durch Kompression der A. ulnaris und anschließend der A. radialis mit angehobenen Armen: Abblassen der Finger bzw. Hände bei Kompression des noch versorgenden Gefäßes. Die farbkodierte Duplexsonographie hilft hier in unklaren Fällen, den retrograden Fluss und somit die funktionelle Verbindung des Hohlhandbogens darzustellen.

**Allen-II-Test.** Diagnostik auf arterielle Kompressionssyndrome der oberen Extremität (z. B. Halsrippe oder kostoklavikuläre Enge). Es erfolgt die Palpation des Pulses der A. brachialis bei 90-Grad-Abduktion des Arms und gleichzeitiger kontralateraler Kopfwendung, evtl. verstärkt durch eine tiefe Inspiration. Bei positivem Test sistiert der zuvor palpable Puls während des Manövers.

### Labordiagnostik

Die Labordiagnostik besteht aus:

- Blutzucker und HbA1c (letzteres bei bekanntem oder neu diagnostiziertem Diabetes mellitus),
- Lipidprofil (Triglyceride, HDL- und LDL-Cholesterin),
- Kreatinin, Harnstoff, Urinstatus (Nierenschädigung),
- Blutbild (Hämatokrit, Polyglobulie, Thrombozytämie),
- bei Beginn bereits im frühen Lebensalter bzw. rasch progredientem Verlauf: Serumhomocystein, Antikardiolipinantikörper, Beta2-Glykoprotein-1-Antikörper und Lupusantikoagulans (Antiphospholipidsyndrom), Protein C, Fibrinogen, Vaskulitisparameter (z. B. BSG, CRP, Auto-Antikörperscreening),
- bei akuter kompletter Ischämie: Kreatinkinase, Laktat, Kalium, Myoglobin in Serum und Urin, Kreatinin im Verlauf (Crush-Niere),
- vor jodhaltiger Kontrastmittelangiographie: zusätzlich TSH (latente/manifeste Hyperthyreose).

### Apparative Diagnostik

Zur verlässlichen Bestimmung der schmerzfreien Gehstrecke muss eine Laufbandergometrie durchgeführt werden. Aufgrund der hohen Koinzidenz einer KHK bei Patienten mit pAVK sollte zeitgleich ein elektrokardiographisches Monitoring erfolgen. In standardisierter Form wird der Laufbandtest als sogenannter »constant load test« mit 3,2 km/h bei einer Steigung von 12% durchgeführt (Norgren et al. 2007). Steht kein Laufband zur Verfügung, kann in der Ebene mit einer Laufgeschwindigkeit von 2 Schritten pro Sekunde (entsprechend ca. 5 km/h) die Gehstrecke ermittelt werden. Erfasst werden die schmerzfreie (bis Schmerzbeginn) und die maximale Gehstrecke.

Als nichtinvasive diagnostische Verfahren stehen die Oszillographie, das Dopplerverfahren sowie die Messung des transkutanen Sauerstoffpartialdrucks ($TcpO_2$-Messung) zur Verfügung.

**Oszillographie.** Diese Methode zeichnet Pulskurven an den Extremitäten auf. Normale Pulskurven zeigen einen steil ansteigenden (anakroten) Pulsschenkel und einen langsam abfallenden (katakroten) Schenkel mit einer kleinen Inzisur (Dikrotie). Der Verlust der Dikrotie spricht für eine Stenosierung der vorgeschalteten Arterie über 50%.

**Direktionale und bidirektionale Dopplersonographie.** Der Quotient aus Knöcheldruck (getrennt gemessen an der A. tibialis posterior sowie der A. dorsalis pedis) und der A. brachialis wird als Knöchel-Arm-Index (KAI) bezeichnet und mithilfe der direktionalen Dopplersonographie erfasst. Ein KAI <0,9 gilt als diagnostisches Kriterium einer pAVK mit einer Sensitivität von 95% und einer Spezifität von fast 100%.

> **Cave**
>
> Zu Fehlinterpretationen kann es bei Patienten mit Mediakalzinose kommen.

Hier sind die Arterien unabhängig vom vorliegenden Perfusionsdruck nicht mit der angelegten Blutdruckmanschette komprimierbar. Der KAI liegt dann bei >1,3 oder die systolischen Absolutdrucke »scheinbar« über 300 mmHg. Diese Messungen sind diagnostisch nicht verwertbar.

Bei Verwendung von bidirektionalen Dopplergeräten kann zusätzlich das Flussprofil mit abgeleitet werden. Nicht stenosierte Gefäße weisen ein typisches Flussprofil (triphasisch) auf. Dies hilft bei einer Mediakalzinose, vorgeschaltete Stenosen zu diagnostizieren. Auch die Verwendung von Zehenmanschetten (von der Mediakalzinose nicht betroffen), der Einsatz der Pulsoszillographie oder Duplexsonographie hilft hier diagnostisch weiter. In diesen Fällen sollte eine angiologische Fachbeurteilung erfolgen.

Auch isolierte Beckenarterienstenosen können mit der alleinigen Verschlussdruckmessung unentdeckt bleiben (kein Druckabfall unter Ruhebedingungen). Diese demaskieren sich oft erst durch einen pathologischen Druckabfall nach körperlicher Belastung (z. B. vergleichende Messung der Knöchel-Arm-Indizes vor und nach Laufbandergometrie). Ein Abfall des KAI um mehr als 15–20% nach Belastung sprechen daher auch für eine periphere arterielle Verschlusskrankheit der Beine (Norgren et al. 2007).

**Transkutane Sauerstoffpartialdruckmessung.** Die $TcpO_2$ ist eine nichtinvasive Methode zur Abschätzung der lokalen Sauerstoffversorgung bei kritischer Ischämie (ab Stadium III bzw. bei einem absoluten Perfusionsdruck unter 50 mmHg). Gemessen wir in der Regel im Bereich des Vorfußes bzw. (bei Stadium IV) auf Höhe der Läsion. Erfasst wird die transkutane Sauerstoffdiffusion mittels einer Clark-Elektrode. Ein $TcpO_2$ von >30 mmHg spricht gegen eine kritische Ischämie.

**Farbkodierte Duplexsonographie.** Die FKDS ist derzeit zweifellos in erfahrener Hand die Standardmethode zur primären Quantifizierung und Lokalisation der Stenosen im »real-time«-Verfahren geworden. Durch moderne

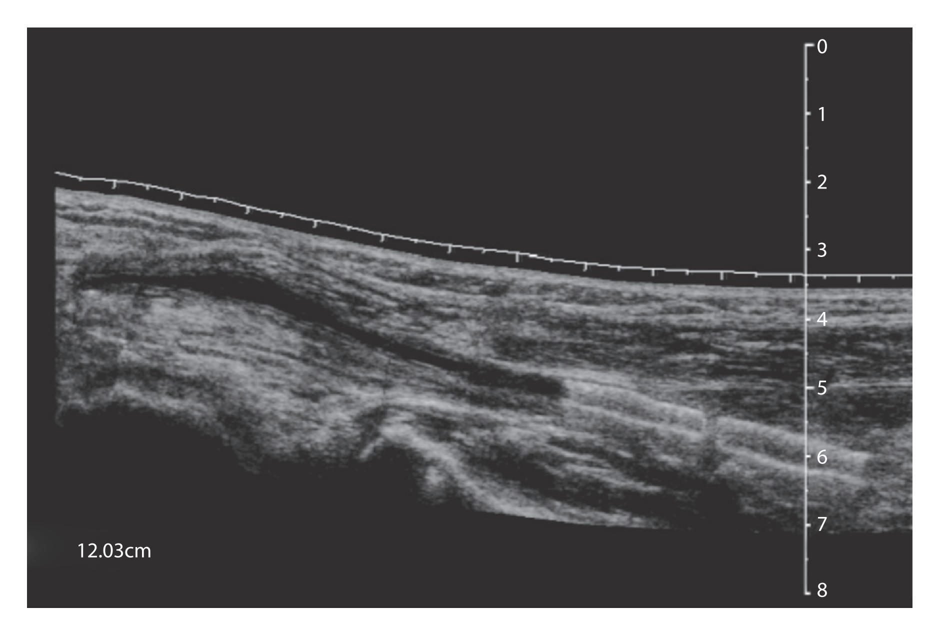



**Abb. 32.5.** Panoramasonographie (7 MHz Linearscanner): Femorofibularer Venenbypass, Zustand nach 2-facher Stentimplantation bei distalen Bypassstenosen

hochauflösende Schallkopftechnologie können sogar Digitalarterien gut dargestellt werden. Im Bereich der Beckengefäße ergeben sich bei Meteorismus Grenzen in der Aussagekraft. Der Vorteil der Duplexsonographie gegenüber anderen bildgebenden Verfahren liegt in der Kombination aus morphologischer Gefäßwandbeurteilung (z. B. CT, Angiographie und MRT) und zusätzlich hämodynamischen Parametern über die Flussmessung im Dopplermodus.

Insgesamt erlauben es die angeführten sonographischen nichtinvasiven Verfahren, mit hoher Sicherheit Lokalisation und Schweregrad der Erkrankung einzustufen. Sie sind heute unverzichtbarer Bestandteil im diagnostischen Pfad geworden, da sie Planung und Auswahl der notwendigen Therapieverfahren ermöglichen (Abb. 32.5).

**Kontrastverstärkte Magnetresonanzangiographie.** Die MR-Angiographie erlaubt die Diagnostik aller großen Gefäße bis in die Unterschenkel- und Unterarmarterien. Bei entsprechender Geräteausstattung und Erfahrung können auch Digitalarterien dargestellt werden. In jüngerer Zeit wird von Fällen systemischer fibrosierender Erkrankungen (sog. nephrogene systemische Fibrose) mit teils tödlichem Ausgang bei Patienten mit einer glomerulären Filtrationsrate (GFR) <30 ml/min unter Einsatz bestimmter MR-Kontrastverstärker (Gadolinium) berichtet. Die Indikation muss bei diesen Patienten daher sehr zurückhaltend gestellt werden.

In der Regel können die meisten Fragen mit der Duplexsonographie beantwortet werden. Viele Stents bilden in der MR-Angiographie Artefakte und sind deshalb nicht beurteilbar. Hingegen bereitet die Beurteilung von Stents mittels der Duplexsonographie in der Regel keine Probleme.

**Cave**

Die MR-Angiographie neigt bei nicht ausreichender Schichtdicke tendenziell zur morphologischen Überschätzung des Stenosegrads.

**Computertomographie-Angiographie.** Die CT-Angiographie kann ebenfalls in einer Sitzung die Gefäße bis in die Unterschenkelarterien darstellen. Das perfundierte Lumen von Stents kann in der Regel beurteilt werden. Allerdings werden Röntgenstrahlung und jodhaltiges potenziell nephrotoxisches Kontrastmittel benötigt.

**Intraarterielle digitale Subtraktionsangiographie.** Die i. a. DSA liefert eine akkurate Abbildung der Gefäße und bietet bei vorangegangener Diagnostik (meist mittels Duplexsonographie mit Festlegung von Zugangsweg und Punktionsrichtung) die Option einer gleichzeitigen endovaskulären Therapie innerhalb einer Sitzung. Dieses Vorgehen sollte heute den Standard darstellen. Die DSA stellt unverändert den »Goldstandard« in der peripheren Gefäßdiagnostik dar, sollte allerdings aufgrund der Risiken, der Strahlen- und Kontrastmittelbelastung nur in Fällen eingesetzt werden, in denen eine invasive Therapie (PTA oder Operation) indiziert ist.

### 32.4.8 Therapie

Therapieziele und -inhalte richten sich nach dem Stadium der Erkrankung:

- Stadium I: Verhinderung einer Progression der pAVK durch Risikofaktorintervention und Therapie der kardiovaskulären Komorbidität
- Stadium II: zusätzlich Verbesserung der Gehstrecke
- Stadium III und IV: zusätzlich Schmerzfreiheit, Wundheilung und Extremitätenerhalt

Bislang gibt es keinen eindeutigen Beweis dafür, dass invasive Maßnahmen (Katheterinterventionen bzw. Operation) im Stadium II die Progression in ein Stadium III oder IV signifikant reduzieren. Allerdings ist gesichert, dass in Stadium III und IV durch gefäßrekonstruktive Maßnahmen sowohl die Amputationsrate als auch die Mortalität reduziert wird.

In Stadium III und IV der pAVK müssen zudem adjuvant eine ausreichende Schmerztherapie, die Therapie einer evtl. vorliegenden Begleitinfektion (Antibiose), lokale Wundversorgung und Druckentlastung der betroffenen Extremität (Entlastungsschuh) eingeleitet werden.



#### Risikofaktormodifikation

Unabhängig vom Auftreten einer klinischen Symptomatik haben Patienten mit pAVK ein erhöhtes kardiovaskuläres Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko. Eine entsprechende Risikofaktorintervention ist daher Grundlage jeder Therapie. Als Zielkriterien gelten:

- Gehtraining: Eine Metaanalyse der Cochrane Collaboration zeigt für strukturiertes Gehtraining eine Verbesserung der Gehstrecke von durchschnittlich 150% (Leng et al. 2000).
- Nikotinabstinenz, evtl. unterstützt durch verhaltenstherapeutische Ansätze, mit pharmakologischer Unterstützung durch Nikotinersatzpräparate am besten in Kombination mit Bupropion.
- Diabetestherapie: Der HbA1c-Zielwert sollte unter 7% liegen.
- Arterielle Hypertonie: Als Zielwert sollte ein Blutdruck <140/90 mmHg angestrebt werden. Bei Diabetikern mit pAVK sollten Werte unter 130/85 mmHg und falls zusätzlich eine diabetische Nephropathie vorliegt ein Ziel von 120/ 80 mmHg angestrebt werden.
- Hyperlipidämie: Der LDL-Cholesterin-Zielwert sollte <100 mg/dl liegen, bei Hochrisikopatienten sind Zielwerte <70 mg/dl anzustreben. Eine Verlängerung der Gehstrecke ist sowohl für Atorvastatin als auch für Simvastatin belegt (Mohler et al. 2003; Mondillo et al. 2003).
- Hyperhomocysteinämie: Eine monokausale Vitaminsubstitutionstherapie wird nicht mehr empfohlen. Auf eine gesunde Ernährung mit ausreichend Folsäure und Vitamin $B_{12}$ sollte geachtet werden.

#### Thrombozytenfunktionshemmende Therapie

Den zweiten Grundpfeiler stellt die antithrombozytäre Therapie dar. Für Patienten mit symptomatischer pAVK zeigte sich in der Antiplatelet Trialists' Collaboration Metaanalyse (ATTC 1994) eine Risikoreduktion für kardiovaskuläre Ereignisse (Schlaganfall, Myokardinfarkt und vaskuläre Todesursache) von 23%. Das Risiko für einen arteriellen Verschluss kann um 30% gesenkt werden. Neben ASS kamen auch Clopidogrel, Ticlopidin, Dipyridamol und Picotamid zur Anwendung.

Ob diese Effekte auch für asymptomatische Patienten mit pAVK zutreffen, ist anhand der aktuellen Datenlage noch nicht eindeutig zu beurteilen. Es gibt Studien, die eine Wirksamkeit von ASS in der Primärprävention für Myokardinfarkt und Schlaganfall zeigen (Berger et al. 2006). Die zunehmenden Erkenntnisse über die pathophysiologische Bedeutung der Thrombozyten bei der Entwicklung der Atherosklerose machen protektive Effekte einer thrombozytenfunktionshemmenden Therapie auch für asymptomatische Stadien der pAVK höchst wahrscheinlich und werden deshalb von den Fachgesellschaften empfohlen (ACC/AHA Guidelines 2005, Hirsch et al. 2005). Eine Verbesserung der Gehstrecke im Stadium II n. F. ist allerdings durch eine thrombozytenfunktionshemmende Therapie nicht zu erreichen (Cosmi et al. 2001).

ADP-Antagonisten wie Clopidogrel scheinen im Vergleich zu Acetylsalicylsäure bei pAVK einen geringen Vorteil zu bringen. In der CAPRIE-Studie (n=6452 Patienten mit pAVK) war das jährliche Risiko für ischämischen Schlaganfall, Herzinfarkt oder Gefäßtod bei pAVK-Patienten mit einer Inzidenz von 3,7% unter Clopidogrel versus 4,8% unter ASS signifikant niedriger – bei vergleichbaren Nebenwirkungsraten. Die kombinierte Gabe von ASS und Clopidogrel scheint für die Dauertherapie keine Vorteile gegenüber der Monotherapie zu bringen, allerdings wird in vielen Zentren periinterventionell für mehrere Wochen eine kombinierte Gabe durchgeführt. Andere antithrombozytäre Substanzen wie Abciximab sind Gegenstand von Studien, Langzeitdaten liegen bis dato aber noch nicht vor.

#### Antikoagulanzien

Antikoagulanzien haben in der Therapie der Claudicatio intermittens ebenfalls keinen symptomatischen Effekt. In der Langzeittherapie zeigen sich für Antikoagulanzien alleine oder in Kombination mit ASS in früheren Studien keine signifikanten Vorteile hinsichtlich des Risikos vaskulärer Ereignisse gegenüber einer Therapie mit ASS allein, jedoch ein erhöhtes Blutungsrisiko. Die Warfarin Antiplatelet Vascular Evaluation (Anand et al. 2007) zeigt für Patienten mit pAVK (die extrakranielle Halsgefäße und die oberen Extremitäten mit einbeziehend) bei einer Kombinationstherapie mit einer mittleren oralen Antikoagulation

(INR 2,2) durch Warfarin und einer antithrombozytären Therapie (ASS, Clopidogrel oder Ticlopidin) gegenüber einer alleinigen antithrombozytären Therapie keinen Unterschied für das Risiko für Myokardinfarkt, Schlaganfall oder kardiovaskulären Tod. Das relative Risiko lebensbedrohlicher Blutungen war für die Kombinationstherapie gegenüber der alleinigen antithrombozytären Therapie aber mehr als 3-fach erhöht, das für hämorrhagische Schlaganfälle sogar mehr als 15-fach.

Nach PTA oder PTA mit Stent gibt es keine Hinweise für verbesserte Offenheitsraten unter oraler Antikoagulation (mit Cumarinderivaten) gegenüber ASS. Hier ist die Therapie mit Thrombozytenaggregationshemmern unverändert der Standard und durch Studiendaten belegt.

Lediglich Patienten mit infrainguinalen Venenbypässen und hier insbesondere Patienten mit gelenksüberschreitenden Venenbypässen, scheinen von einer oralen Antikoagulanzientherapie zu profitieren (BOA Study Group 2000).

### Rheologische Therapie

#### Cilostazol

Cilostazol ist seit 2007 in Deutschland zur Therapie der pAVK im Stadium II n. F. zugelassen. Es erhöht über die Hemmung der Phosphodiesterase III intrazelluläres zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP) und hat neben thrombozytenaggregationshemmenden auch vasodilatatorische und positiv rheologische Effekte (Woo et al. 2002). Zudem erhöht es auf noch ungeklärte Weise den HDL-Cholesterinspiegel und senkt die Triglyzeride im Plasma (Elam et al. 1998). Daneben sind hemmende Effekte auf die Expression von VCAM-1 (»vascular cell adhesion molecule-1«) und die Proliferation von glatten Muskelzellen beschrieben (Otsuki et al. 2001, Takahashi et al. 1992).

Die Effektivität zur Steigerung der Gehstrecke ist in verschiedenen Studien belegt. Eine Metaanalyse zeigt für 2-mal 100 mg Cilostazol/Tag je nach angewandtem Testverfahren eine Verbesserung der Gehstrecke von 76% (»constant load test«) bzw 40% (»graded exercise test«) gegenüber jeweils 20% für die Placebogruppe. Überdies konnte eine messbare Verbesserung der Beschwerden sowie der Lebensqualität (SF 36 und Walking Impairment Questionnaire) erzielt werden (Regensteiner et al. 2002). Die Verbesserung der Gehstrecke ist dosisabhängig (Beebe et al. 1999). In Deutschland liegt die empfohlene Tagesdosis bei 2-mal 100 mg p.o. für die Dauer von bis zu 6 Monaten. Die TASC II empfiehlt Cilostazol als Mittel der ersten Wahl bei der medikamentösen Therapie der pAVK im Stadium II n. F. (Norgren et al. 2007). Für das Stadium III und IV besteht keine Zulassung

Für die Gesamtmortalität ergibt sich aus der CASTLE-Studie (Hiatt et al. 2008) kein eindeutiger Vorteil für Cilostazol, allerdings zeigt eine große Koronarinterventionsstudie (CREST-Studie) niedrigere Restenoseraten unter Cilostazol und ASS gegenüber einer alleinigen Therapie mit ASS (Douglas 2005). In einer asiatischen Studienpopulation konnten positive Effekte in der Sekundärprophylaxe nach ischämischem Insult gezeigt werden (Gotho et al. 2000).

Als unerwünschte Nebenwirkungen treten vorwiegend Kopfschmerzen (bis zu einem Drittel der Patienten), Übelkeit und Diarrhoe zu Therapiebeginn auf. Herzrhythmusstörungen sind mit 0,9% eher selten. Bei Herzinsuffizienz sollte Cilostazol aufgrund früherer Erfahrungen mit anderen Phosphodiesterase-III-Hemmern (z. B. Milrinon) bis weitere Daten zur Verfügung stehen nicht zur Anwendung kommen. Weitere Kontraindikationen sind in der Übersicht zusammengefasst.

**Cilostazol: Kontraindikationen**

- Herzinsuffizienz
- schwere Nierenfunktionsstörungen (Kreatininclearance ≤25ml/min)
- mittelschwere oder schwere Leberfunktionsstörungen
- bekannte Blutungsneigung
- anamnestisch bekannte ventrikuläre Tachykardie
- Kammerflimmern oder multifokale ventrikuläre Ektopien sowie verlängertes QTc-Intervall
- Einnahme von CYP3A4- oder CYP2C19-Inhibitoren

Aufgrund der thrombozytenaggregationshemmenden Wirkung führt Cilostazol in Kombination mit ASS oder Clopidogrel zu einer verlängerten Blutungszeit.

#### Naftidrofuryl

Bei Naftidrofuryl handelt es sich um einen 5-Hydroxytryptamin-Typ-2-Rezeptorantagonisten, der den Muskelstoffwechsel verbessert und die Aggregationsbereitschaft von Erythrozyten und Thrombozyten senkt. Die Tagesdosis liegt bei 600 mg p.o aufgeteilt auf 2–3 Einzeldosen. Retardpräparate stehen zur Verfügung. In einer Metaanalyse ergab sich eine Steigerung der schmerzfreien Gehstrecke gegenüber Placebo von 26%. In 3 neueren Studien zeigten sich nach 6- bzw. 12-monatiger Behandlung ebenfalls eine Verbesserung der schmerzfreien Gehstrecke von 92% bzw. 107% gegenüber 14% bzw. 12% unter Placebo sowie eine messbare Verbesserung der Lebensqualität (Lehert et al. 1994, Spengel 2002). Die Studienlage ist gegenüber Cilostazol weniger eindeutig, da auch Studien ohne Überlegenheit gegenüber Placebo publiziert sind.

### Pentoxifyllin

Pentoxifyllin ist ein Xanthinderivat. Es senkt die Viskosität des Blutes durch eine vermehrte Plastizität der Erythro- und Thrombozyten. In einigen Studien konnte der Plasmafibrinogenspiegel gesenkt werden. Zudem hemmt es die Aktivierung und Adhäsion von neutrophilen Granulozyten. In früheren Studien konnte eine marginale, aber signifikante Verbesserung der Gehstrecke von wenigen Metern ermittelt werden (Hood et al. 1996). Neuere Studien zeigen keine Verbesserung der Gehstrecke gegenüber Placebo (Dawson et al. 2000). Die empfohlene Tagesdosis liegt bei 3-mal 400 mg p.o. Hinsichtlich der derzeitigen Datenlage sind die zu erwartenden klinischen Effekte eher gering, im klinischen Alltag findet Pentoxifyllin in Deutschland bei der Behandlung der pAVK daher kaum Anwendung.

### Prostaglandine

In Deutschland ist Prostaglandin $E_1$ (Alprostadil) momentan das einzig zugelassene Medikament für das Stadium III und IV n. F. der pAVK. Prostaglandin $I_2$ (Iloprost) ist für die Therapie fortgeschrittener Stadien der Thrombangitis obliterans zugelassen. Beachtet werden muss, dass Prostaglandine im Stadium II n. F. bislang nicht zugelassen sind. Kommt ein operatives oder interventionelles Vorgehen nicht infrage, können Prostaglandine intravenös über einen Zeitraum von bis zu 28 Tagen verabreicht werden. In der Mehrzahl der in der Literatur verfügbaren Prostaglandinstudien zeigt sich eine Verbesserung der Schmerzsymptomatik, eine abnehmende Ulkusgröße oder reduzierte Amputationsraten (Norgren et al. 2007).

Nebenwirkungen der Prostaglandine sind unter anderem Phlebitis der Infusionsvene, Schweißausbruch und Tachykardie. Kontraindiziert sind Prostaglandine bei unzureichend behandelter Herzinsuffizienz, Herzrhythmusstörungen, Myokardinfarkt in den letzten 6 Monaten, höhergradigen Herzklappenvitien und bei zu erwartenden Blutungskomplikationen.

### Zukünftige Behandlungskonzepte

L-Arginin erhöht die Verfügbarkeit von endothelialem Stickoxid und führt somit zu einer verbesserten Endothelfunktion. In einer früheren Studie konnte über die Nahrung supplemetär zugeführtes L-Arginin zu einer verlängerten schmerzfreien Gehstrecke führen (Maxwell et al. 2000).

L-Carnitin nimmt Einfluss auf den oxidativen Stoffwechsel im Muskel und konnte bei oraler Gabe die Gehstrecke in 2 Multicenterstudien gegenüber Placebo verbessern (Brevetti et al. 1999; Hiatt et al. 2001).

Die Behandlung mit VEGF (»vascular endothelial groth factor«) oder bFGF (»basic fibroblast growth factor) stellen weitere interessante Konzepte der Zukunft dar. Für rFGF (»recombined fibroblast growth factor«) konnte in der TRAFFIC-Studie eine verbesserte Gehstrecke bei Patienten mit Claudicatio intermittens erzielt werden (Lederman et al. 2002). VEGF blieb in der RAVE-Studie hinter den Erwartungen zurück (Rajagopalan et al. 2003). Diese Konzepte werden bislang allerdings nur als Ultima ratio im Rahmen von Studien verfolgt. Aufgrund der inkonsistenten Datenlage ist es noch zu früh, die Rolle dieser Verfahren sicher zu beurteilen.

## Interventionelle und chirurgische Therapie

Ab dem Stadium IIb besteht die Indikation zu Verfahren, welche die Strombahn wiederherstellen. Hierbei gibt es verschiedene grundlegende Therapieoptionen (siehe Übersicht).

**Therapieoptionen zur Wiederherstellung der Strombahn**

- perkutane transluminale Angioplastie (PTA mit und ohne Stentimplantation)
- Thrombolysetherapie
- Aspirationsembolektomie
- Patchplastik, Profundaplastik
- Thrombendarteriektomie
- operative Vasorekonstruktion mittels Bypass
- CT-gesteuerte lumbale Sympathektomie (CT-LSE)

### Interventionelle Therapie

Das Grundprinzip der interventionellen Therapie besteht in der Führungsdrahtpassage einer Stenose oder Verschlusslokalisation (evtl. in Kombination mit einer vorausgegangenen Lysetherapie bei frischen Gefäßverschlüssen), Platzierung eines Dilatationskatheters im Stenosebereich und anschließender Ballondilatation (Angioplastie) zur Verbesserung des luminalen Gefäßquerschnitts (Abb. 32.6).

Kurzstreckige iliakale oder femorale Stenosen sind die Domäne der Angioplastie und damit primär einer Operation vorzuziehen. Eingeschränkte Erfolgsraten zeigen sich bei multiplen Stenosierungen und insbesondere bei längerstreckigen Verschlüssen. Hier sollte zwischen einer erweiterten interventionellen Therapie und einem gefäßchirurgischen Eingriff entschieden werden.

Distal lokalisierte Stenosen mit lokaler Thrombosierung kommen für eine lokale Fibrinolyse mit oder ohne Thrombusaspiration (Aspirationsembolektomie, z. B. auch bei akuter Ischämie auf dem Boden eines embolischen Gefäßverschlusses) mit nachfolgender PTA infrage. Die Indikation zur thrombolytischen Therapie ist abhängig vom Alter und der Lokalisation des thrombotischen Gefäßverschlusses. Verschlüsse großer Gefäße, wie z. B. der iliakalen Strombahn, zeigen sich bis zu einem Thrombusalter von 6 Monaten lysierbar, während für Gefäßverschlüsse der Fingerarterien ein Lyseerfolg bereits nach 7–10 Tagen deutlich abnimmt.

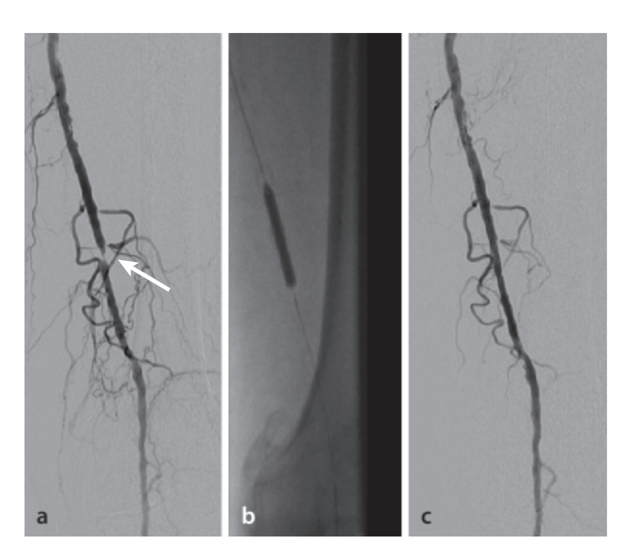



**Abb. 32.6a–c.** Verbesserung des luminalen Gefäßquerschnitts. **a** Perkutane transluminale Angioplastie (PTA) der A. femoralis superficialis, hochgradige kurzstreckige Stenose (*Pfeil*) mit suprastenotischen Kollateralen bei ansonsten diffuser Atherosklerose, **b** PTA-Ballon auf Höhe der Stenose, **c** postinterventionelles Ergebnis

In der **Beckenstrombahn** (Iliakalgefäße) liegen die technischen Erfolgsraten für eine PTA bei über 90%. Für längerstreckige Läsionen sind es ca. 85%, für umschriebene fokale Läsionen fast 100%. Die primären Offenheitsraten für die PTA allein liegen nach 5 Jahren bei 71% (Norgren et al. 2007), für PTA in Kombination mit einer Stentimplantation liegen sie nach 5 Jahren bei 82% (Klein et al. 2004). Aufgrund dieser Daten hat sich die primäre Stentimplantation im Beckenbereich weitgehend durchgesetzt.

In der **femoropoplitealen Strombahn** zeigt die interventionelle Therapie schlechtere Ergebnisse, dennoch sind heute bei Läsionen bis zu 10 cm aufgrund der geringeren Invasivität des Eingriffs endovaskuläre Verfahren meist zu bevorzugen. Die primären technischen Erfolgsraten für die PTA liegen ebenfalls bei über 90% (Muradin et al. 2001). Fortschritte in der Materialtechnik sowie in der Verfahrenstechnik wie die subintimale Rekanalisation haben zu diesen hohen Rekanalisationsraten geführt. Die Offenheitsraten nach einem Jahr sind allerdings mit 40–60% deutlich ungünstiger als im Beckenbereich.

Ob die primäre Implantation selbstexpandierbarer Stents in der femoropoplitealen Strombahn einen Vorteil bringt, kann noch nicht abschließend beurteilt werden, da hier unterschiedliche Studienergebnisse vorliegen. Bei Patienten ohne geeignete Venen für eine Bypassversorgung ist die interventionelle Therapie auch bei längerstreckigen Verschlüssen der A. femoralis superficialis eine Therapieoption, da Kunststoffbypässe schlechtere Langzeitdaten aufweisen. Welches Potenzial »drug-eluting«-Stents oder »drug-coated«-Ballonkatheter mit sich bringen ist Gegenstand laufender Studien.

In der **kruralen Strombahn** werden endovaskuläre Verfahren nur zum Extremitätenerhalt bei chronisch kritischer Ischämie eingesetzt (ab Stadium III). Die primäre technische Erfolgsrate im Sinne eines Extremitätenerhalts erreicht bis zu 90%, das klinische Ansprechen trotz hoher Restenoseraten bis zu 70%. Im Stadium II n. F. werden krurale Gefäßpathologien nur in seltenen Ausnahmen interventionell oder chirurgisch therapiert, z. B. bei kurzen Abgangsstenosen und bei mehr als einem verbliebenen perfundierten Unterschenkelgefäß zur Verbesserung des distalen Ausstroms bei proximaler PTA bzw. Bypassversorgung.

Bei zusätzlich bestehenden sehr peripheren Arterienverschlüssen kann eine **lumbale Sympathektomie** (LSE) die periphere Zirkulation verbessern. Dieser Eingriff kann interventionell CT-gesteuert (CT-LSE) durchgeführt werden. Bei Patienten mit Diabetes mellitus und Polyneuropathie ist der Effekt einer LSE deutlich eingeschränkt.

## Chirurgische Therapie

Kerntechniken der chirurgischen Therapie an den peripheren Gefäßen sind die Thrombektomie bei frischem embolischem Gefäßverschluss, die Thrombendarteriektomie mit und ohne Erweiterungspatchplastik bei Plaquestenosen sowie die Bypasschirurgie. Zum Einsatz kommen autologe Venen und prothetisches Bypassmaterial, wobei autologe Venenbypässe (z. B. die V. saphena magna) im Bereich der distalen Extremitäten die besten Offenheitsraten bieten.

Die chirurgische Therapie bei **aortoiliakalen Läsionen** ist in der Regel der aortoiliakale bzw. aortofemorale Bypass. Als Material stehen Polytetrafluorethylen (PTFE) oder Polyethylenterephthalat (Dacron) mit vergleichbaren Ergebnissen zur Verfügung. Die 5-Jahres-Offenheitsraten liegen bei ca. 90% (deVries u. Hunink 1997). Ist ein abdomineller Zugang für diese Verfahren bei biiliakalen Stenosen nicht möglich, kann im Stadium der kritischen Ischämie auch ein axillofemoraler Bypass in Kombination mit einem femorofemoralen Bypass auf die kontralaterale Seite (»cross over«) angelegt werden. Die 5-Jahres-Offenheitsraten liegen bei ca. 70% (bifemoral) und ca. 50% (unifemoral; Norgren et al. 2007).

Die 5-Jahres-Offenheitsraten für nicht gelenkübergreifende **femoropoliteale Bypässe** liegen für Venenbypässe bei 80% (Claudicatio) und 60% (chronische Ischämie), für PTFE-Bypässe bei 30–39% (deVries u. Hunink 1997).

Für **femorokrurale** bzw. **popliteokrurale Venenbypässe** liegt die 5-Jahres-Offenheitsrate bei 60%, für prothetisches Material unter 35% (TASC II). Popliteopedale Bypässe haben eine 5-Jahres-Offenheitsrate von 41% bei einem 5-Jahres-Extremitätenerhalt von 63% (Norgren et al. 2007).

Bei chronischem Verschluss der A. femoralis superficialis besteht meist eine ausgeprägte Kollateralisierung über Äste der A. profunda femoris nach distal auf die A. poplitea. Ist die A. profunda femoris in ihrem Abgangsbereich rele-

vant stenosiert, kann durch eine erweiternde **Profundaplastik** häufig eine Verbesserung der Kollateralperfusion nach distal erreicht werden.

### 32.4.9 Prognose

Global betrachtet haben Patienten mit einer pAVK eine um ca. 10 Jahre reduzierte Lebenserwartung. Haupttodesursache sind kardiovaskuläre Erkrankungen wie die koronare Herzkrankheit oder der ischämische zerebrale Insult. Die kumulative 5-Jahres-Mortalität bei Männern mit einer pAVK liegt bei 5–17% und liegt damit deutlich über der eines altersgleichen Kontrollkollektivs. Im Stadium III und IV liegt die Mortalität noch höher. Das Vorliegen einer pAVK beeinflusst damit nicht nur die Lebensqualität (Schmerz, Extremitätenerhalt) der Betroffenen, sondern besitzt darüber hinaus eine hohe prädiktive Aussagekraft für das kardiovaskuläre Gesamtrisiko.

### Literatur


Anand S, Yusuf S, Xie C et al.; Warfarin Antiplatelet Vascular Evaluation (WAVE) Trial Investigators (2007) Oral anticoagulant and antiplatelet therapy and peripheral arterial disease. N Engl J Med 357: 217–227

ATTC (Antiplatelet Trialists'Collaboration) (1994) Collaborative Overview of randomised trials of antiplatelet therapy-I: prevention of death, myocardial infarction and stroke by prolonged antiplatelet therapy in various categories of patients. BMJ 308: 81–106; Erratum in: BMJ 1994; 308: 1540

Beebe HG, Dawson DL, Cutler BS, et al. (1999) A new pharmacological treatment for intermittent claudication: results of a randomized, multicenter trial. Arch Intern Med 159: 2041–2050

Berger JS, Rioncaglioni MC, Avanzini F, Pangrazzi I, Tognoni G, Brown DL (2006) Aspirin for the primary prevention of cardiovascular events in women and men: a sex-specific meta-analysis of randomized controlled trials. JAMA 295: 306–313. Erratum in: JAMA 2006; 295: 2002

BOA (The Dutch Bypass Oral anticoagulants or Aspirin) Study Group (2000) Efficacy of oral anticoagulants compared with aspirin after infrainguinal bypass surgery (The Dutch Bypass Oral anticoagulants or Aspirin study): a randomised trial. Lancet 355: 346–351

CAPRIE-Steering Committee (1996) A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). Lancet 348: 1329–1339

Cosmi B, Conti E, Coccheri S (2001) Anticoagulants (heparin, low molecular weight heparin and oral anticoagulants) for intermittent claudication. Cochrane Database Syst Rev: CD001999

Dawson DL, Cutler BS, Hiatt WR, Hobson RW 2nd, Martin JD, Bortey EB, Forbes WP, Strandness DE Jr (2000) A comparison of cilostatzol and pentoxifylline for treating intermittent claudication. Am J Med 109: 523–530

de Vries SO, Hunink MG (1997) Results of aortic bifurcation grafts for aortoiliac occlusive disease: a meta-analysis. J Vasc Surg 26: 558–569

Diehm C, Schuster A, Allenberg JR, Darius H, Haberl R, Lange S, Pittrow D, von Stritzky B, Tepohl G, Trampisch HJ (2004) High prevalence of peripheral arterial disease and co-morbidity in 6880 primary care patients: cross-sectional study. Atherosclerosis 172: 95–105

Douglas JS Jr (2005) Role of adjunct pharmacologic therapy in the era of drug-eluting stents. Atheroscler Suppl 6: 47–52

Elam MB, Heckman J, Crouse JR, Hunningshake DB, Herd JA, Davidson M, Gordon IL, Bortey EB, Forbes WP (1998) Effect of the novel antiplatelet agent cilostazol on plasma lipoproteins in patients with intermittent claudication. Arterioscler Thromb Vasc Biol 18: 1942–1947

Gotho F, Tohgi H, Hirai S (2000) Cilostazol Stroke Prevention Study: a placebo-controlled double-blind trial for secondary prevention of cerebral infarction. J Stroke Cerebrovasc Dis 9: 147–157

Hiatt WR, Regensteiner JG, Creager MA et al. (2001) Propionyl-L-carnitine improves exercise performance and functional status in patients with claudication. Am J Med 110: 616–622

Hiatt WR, Money SR, Brass EP (2008) Long-term safety of cilostazol in patients with peripheral artery disease: the CASTLE study (Cilostazol: A Study in Long-term Effects). J Vasc Surg. 47:330–336

Hirsch AT, Haskal ZJ, Hertzer NR et al. (2005) ACC/AHA 2005 Practice Guidelines for the management of patients with peripheral arterial disease (lower extremity, renal, mesenteric, and abdominal aortic). Circulation 113: e463–654

Hood SC, Moher D, Barber GG (1996) Management of intermittent claudication with pentoxifylline: meta-analysis of randomized controlled trials. CMAJ 155: 1053–1059

Kannel WB, McGee DL (1985) Update on some epidemiologic features of intermittent claudication: the Framingham Study. J Am Geriatr Soc 33: 13–18

Klein WM, van der Graaf Y, Seegers J, Moll FL, Mali WP (2004) Long-term cardiovascular morbidity, mortality, and reintervention after endovascular treatment in patients with iliac artery disease: The Dutch Iliac Stent Trial Study. nRadiology 232: 491–498

Lederman RJ, Mendelsohn FO, Anderson RD et al.; TRAFFIC Investigators (2002) Therapeutic angiogenesis with recombinant fibroblast growth factor-2 for intermittent claudication (the TRAFFIC study): a randomised trial. Lancet 359: 2053–2058

Lehert P, Comte S, Gamand S, Brown TM (1994) Naftidrofuryl in intermittent claudication: a retrospective analysis. J Cardiovasc Pharmacol 23 Suppl 3: 48–52

Leng GC, Fowler B, Ernst E (2000) Exercise for intermittent claudication. Cochrane Database Syst Rev. (2): CD000990

Maxwell AJ, Anderson BE, Cooke JP (2000) Nutritional therapy for peripheral arterial disease: a double-blind, placebo-controlled, randomized trial of HeartBar. Vasc Med 5: 11–19

Mohler ER 3rd, Hiatt WR, Creager MA (2003) Cholesterol reduction with atorvastatin improves walking distance in patients with peripheral arterial disease. Circulation. 108: 1481–6

Mondillo S, Ballo P, Barbati R, Guerini F, Ammaturo T, Agricole E, Pastore M, Borello F, Belcastro M, Picchi A, Nami R (2003) Effects of simvastatin on walking performance and symptoms of intermittent claudication in hypercholesterolemic patients with peripheral vascular disease. Am J Med 114: 359–364

Muntner P, Wildman RP, Reynolds K, Desalvo KB, Chen J, Fonseca V (2005) Relationship between HbA1c level and peripheral arterial disease. Diabetes Care 28: 1981–1987

Muradin GS, Bosch JL, Stijnen T, Hunink MG (2001) Balloon dilation and stent implantation for treatment of femoropopliteal arterial disease: meta-analysis. Radiology 221: 137–145

Norgren L, Hiatt WR, Dormandy JA, Nehler MR, Harris KA, Fowkes FG; TASC II Working Group (2007) Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II). J Vasc Surg 45 Suppl S: S5–67

Otsuki M, Saito H, Xu X, Sumitani S, Kouhara K, Kurabayashi M, Kasayama S (2001) Cilostazol represses vascular cell adhesion molecule-1 gene transcription via inhibiting NF-kappaB binding to its recognition sequence. Atherosclerosis 158: 121–128

Rajagopalan S, Mohler ER 3rd, Lederman RJ et al. (2003) Regional angiogenesis with vascular endothelial growth factor in peripheral arte-

rial disease: a phase II randomized, double-blind, controlled study of adenoviral delivery of vascular endothelial growth factor 121 in patients with disabling intermittent claudication. Circulation 108: 1933–1938

Regensteiner JG, Ware JE Jr, McCarthy WJ, Zang P, Forbes WP, Heckmann J, Hiatt WR (2002) Effect of cilostazol on treadmill walking, community-based walking ability, and health-related quality of life in patients with intermittent claudication due to peripheral arterial disease: meta-analysis of six randomized controlled trials. J Am Geriatr Soc 50: 1939–1946

Ridker PM, Stampfer MJ, Rifai N (2001) Novel risk factors for systemic atherosclerosis: a comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. JAMA 285: 2481–2485

Rutherford RB, Baker JD, Ernst C, Johnston KW, Porter JM, Ahn S, Jones DN (1997) Recommended standards for reports dealing with lower extremity ischemia: revised version. J Vasc Surg 26: 517–538. Erratum in: J Vasc Surg 2001; 33: 805

Salomaa V, Matei C, Aleksic N, Sansores-Garcia L, Folsom AR, Juneja H, Par E, Wu KK (2001) Cross-sectional association of soluble thrombomodulin with mild peripheral artery disease; the ARIC study. Atherosclerosis Risk in Communities. Atherosclerosis 157: 309–314

Selvin E, Marinopoulos S, Berkenblit G, Rami T, Brancati FL, Powe NR, Golden SH (2004) Meta-analysis: glycosylated hemoglobin and cardiovascular disease in diabetes mellitus. Ann Intern Med 141: 421–431

Spengel F, Clement D, Boccalon H, Liard F, Brown T, Lehert P (2002) Findings of the Naftidrofuryl in Quality of Life (NIQOL) European study program. Int Angiol 21: 20–27

Takahashi S, Oida K, Fujiwara R, Maeda H, Hayashi S, Takai H, Tamai T, Nakai T, Miyabo S (1992) Effect of cilostazol, a cyclic AMPphosphodiesterase inhibitor, on the proliferation of rat aortic smooth muscle cells in culture. J Cardiovasc Pharmacol 20: 900–906

Tzoulaki I, Murray GD, Lee AJ, Rumley A, Lowe GD, Fowkes FG (2007) Inflammatory, haemostatic, and rheological markers for incident peripheral arterial disease: Edinburgh Artery Study. Eur Heart J 28: 354–362

Woo SK, Kang WK, Kwon KI (2002) Pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling of the antiplatelet and cardiovascular effects of cilostazol in healthy humans. Clin Pharmacol Ther 71: 246–52

## 32.5 Arterielle Thromboembolien an seltenen Lokalisationen

*H. F. Langer, M. Gawaz*



### Einleitung

Da die Atherosklerose eine systemische Erkrankung aller arterieller Gefäße des Körpers ist, können neben den Prädilektionsregionen für atherothrombotische Komplikationen wie Herz oder untere Extremität auch die Arterien weiterer Organe, wie z. B. des Auges, des Darms, der Nieren und der Milz, betroffen sein. Dabei spielen vor allem Embolien, aber auch lokale Thrombosen eine Rolle.

Durch die geringe Prävalenz gibt es für diese Krankheitsbilder vergleichsweise wenige systematische Patientenstudien. Aufgrund der Tatsache, dass sie teilweise ein ähnliches klinisches Erscheinungsbild wie deutlich häufiger auftretende Krankheitsbilder bieten, werden diese Erkrankungen nicht selten zu spät erkannt und therapiert. Dies ist eine der Ursachen für einen häufig ernsthaften Verlauf der Erkrankung bzw. eine bedeutsame Mortalität. Im Folgenden sollen mehrere Beispiele für Organe als Manifestationsorte arterieller Thrombosen behandelt werden.

### 32.5.1 Zentralarterienverschluss

#### Ätiologie

Ein Verschluss der Zentralarterie des Auges wurde 1859 zum ersten Mal als Ursache eines Visusverlusts dokumentiert. Die jährliche Inzidenz der Erkrankung liegt etwa bei 1–15:10.000. Die meisten der Patienten sind zwischen 65 und 70 Jahre alt und weisen die klassischen Risikofaktoren der Atherosklerose auf (Framme et al. 2001).

#### Klinik

Zum typischen Erscheinungsbild des Zentralarterienverschlusses gehört ein plötzlicher einseitiger Visusverlust. Bei der initialen ophtalmologischen Untersuchung zeigt sich der Nachweis einer akuten retinalen Ischämie, in der Fundusangiographie das Fehlen oder eine deutliche Stase der arteriellen Zirkulation der Retina.

#### Therapie

Bei einem Zentralarterienverschluss (ZAV) kann laut Literatur durch eine konventionelle Therapie nur selten der prognostisch ungünstige Verlauf verbessert werden (Framme et al. 2001). Eine vollständige Visusrehabilitation ist nur in 5,8% zu erwarten (Augsburger u. Magargal 1980). Als konventionelle Behandlungsmethode gilt die Bulbusmassage, die Gabe von durchblutungsfördernden Mitteln

wie Pentoxifyllin, die Verabreichung von Karboanhydrasehemmern zur Augendrucksenkung und/oder die Parazentese. Weiterhin wird – sofern keine Kontraindikation besteht – eine systemische Antikoagulation veranlasst.

Aufgrund der geringen Erfolge konservativer Ansätze hat sich in Zentren die selektive oder lokale intraarterielle Fibrinolyse (LIF) etabliert (Schumacher et al. 1991, Tsai et al. 1990), die mit einer Erfolgsrate von 7–43% einhergeht (Feltgen et al. 2006) und die v. a. bei jungen Patienten von Vorteil zu sein scheint (Framme et al. 2001). Dabei sollte der Verschluss in der Regel nicht länger als 6 h bestehen. Jenseits dieser Zeitspanne ist die Wirksamkeit der LIF als sehr eingeschränkt anzusehen. Neurologische Komplikationen infolge der IF werden mit einer Häufigkeit von 4 bis 11% angegeben (Framme et al. 2001).

## 32.5.2 Mesenterialarterieninfarkt

### Ätiologie

Die Häufigkeit einer mesenterialen Ischämie wird mit 0,4–3,8% aller Patienten mit akutem Abdomen angegeben (Ammaturo et al. 2001, Batellier u. Kieny 1990, van Geloven 2000). Tatsächlich liegt die Inzidenz vermutlich viel höher, da 60% aller Mesenterialarterieninfarkte post mortem diagnostiziert werden.

32

**! Mindestens 80% aller mesenterialen Embolien entstehen auf dem Boden einer arteriellen Perfusionsstörung, nur 14% durch eine Mesenterialvenenthrombose.**

Eine weitere Ursache stellt eine funktionell-spastische Störung der Gefäßmuskulatur dar. Der Anteil der auf dem Boden einer Atherosklerose der Mesenterialarterien entstandenen akuten Ischämie hat sich durch die Bevölkerungsentwicklung von 12% auf 20% erhöht (Eckstein 2003). Akute Gefäßverschlüsse im Mesenterialbereich betreffen insbesondere die A. mesenterica superior und ihre Endäste (Tab. 32.13).

### Klinik

Durchblutungsstörungen im Versorgungsgebiet der Mesenterialarterien können sich klinisch als chronisch rezidivierende Ischämien (Angina abdominalis) oder als akuter Gefäßverschluss bemerkbar machen. Bei Verschluss von 2 Arterienhauptstammästen kommt es nach größeren Mahlzeiten zu abdominellen Schmerzen, außerdem zu Gewichtsverlust und Stuhlunregelmäßigkeiten.

Je nach Ursache findet sich eine protrahiert über Stunden bis Tage zunehmende oder akut einsetzende heftige Schmerzsymptomatik mit Übelkeit, Erbrechen und eventuell Blutdruckabfall. Weiterhin sind blutige Durchfälle möglich. Innerhalb von Stunden kommt es dann im Rahmen des Darmwandödems, der Ausbildung von Nekrosen und einer bakteriellen Durchwanderungsperitonitis zum Vollbild des akuten Abdomens, das in der Regel eine sofortige chirurgische Therapie notwendig macht.

### Therapie

Die chirurgische Therapie der Mesenterialarterienthrombose hängt von der Ätiologie ab. Bei embolischem Geschehen kommen andere chirurgische Techniken zum Einsatz als bei der Mesenterialarterienthrombose (Eckstein 2003). Der therapeutische Stellenwert der Thrombolyse oder endovaskulärer Verfahren ist derzeit nicht gesichert.

**! Die Letalität der akuten Mesenterialarterienthrombose beträgt ca. 25%.**

## 32.5.3 Nierenarterieninfarkt

### Ätiologie

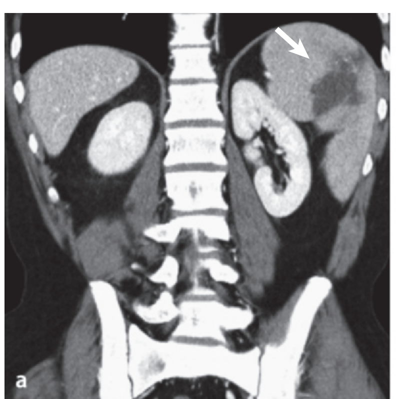
Aufgrund der Seltenheit existieren in der Literatur nur ungenügende Daten zum Krankheitsbild Niereninfarkt (Domanovits et al. 1999). In einer Studie wird von 17 Patienten in 14 Jahren berichtet, wobei die Diagnose klinisch oder durch die Autopsie gestellt wurde (Lessman et al. 1978). In einer post mortem Studie wurde eine Inzidenz von 1,4% berichtet, wobei nur wenige Fälle ante mortem diagnostiziert waren. Die Großzahl der Patienten mit Nierenarterieninfarkt ist älter als 60 Jahre, 22% zeigen ein vorbestehendes embolisches Geschehen, wobei v. a. Vorhofflimmern eine Rolle zu spielen scheint (Hazanov et al. 2004).

### Klinik

Klinisch zeigen sich bei der Mehrzahl der Patienten mit Niereninfarkt abdominelle oder unilaterale Flanken-

**Tab. 32.13.** Ätiologie der akuten mesenterialen Ischämie

| | Arterielle Embolie(%) | Arterielle Thrombose (%) | Funktionell-spastische Ischämie (%) | Venöse Thrombose (%) | Sonstige (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| Bis 1990 (Rivers u. Veith 2000) | 45 | 12 | 20 | 8 | 15 |
| Nach 1990 (Eckstein 2003) | 37 | 20 | 25 | 14 | 4 |



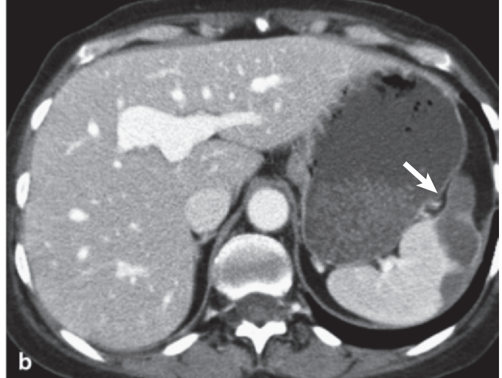




**Abb. 32.7a,b.** Patient mit akutem Milzinfarkt. Sowohl die koronare (**a**) als auch die horizontale Schnittführung (**b**) machen den ausgeprägten Infarkt (*Pfeil*) deutlich. (Mit freundlicher Genehmigung von PD Dr. Marius Horger, Klinik für Radiologie, Universitätsklinikum Tübingen)

schmerzen, Hämaturie und eine erhöhte LDH, was zur Fehldiagnose anderer, häufiger auftretender Erkrankungen führen kann. Als Diagnostik kann ein Kontrastmittel-CT, eine Szintigraphie der Niere oder als invasive Methode eine Nierenangiographie durchgeführt werden.

#### Therapie

**! In der Regel wird bei Patienten mit Niereninfarkt bei Fehlen von Kontraindikationen mit einer systemischen Antikoagulation therapiert.**

Es gibt keine Daten zur Therapie mit antithrombozytären Substanzen (Bolderman et al. 2006). Individuell kann auch eine Thrombolyse oder eine interventionelle oder operative Embolektomie in Erwägung gezogen werden.

### 32.5.4 Milzinfarkt

#### Ätiologie

Ein Milzinfarkt kann durch thromboembolische Ereignisse kardialer, aortaler oder milzarterieller Genese verursacht werden. Die genaue Ätiologie der Milzembolisation sowie der Pathogenese und der Diagnostik der spontanen Milzruptur nach Milzinfarkt sind allerdings nicht sicher geklärt. In einer Analyse mit 75 Patienten bzw. 77 Fällen aus der Literatur wiesen Patienten unter 40 Jahren häufiger assoziierte hämatologische Grunderkrankungen, Patienten älter als 41 Jahre häufiger ein thromboembolisches Ereignis auf (Jaroch et al. 1986). Auch lokale Veränderungen der Milzarterie waren vorhanden, allerdings selten. In einer weiteren retrospektiven Studie mit 64 Patienten im Alter von 58 Jahren (±17) wiesen 50% eine hämatologische, 29% eine kardiovaskuläre Grunderkrankung auf (Frippiat et al. 1996).

#### Klinik

Klinisch zeigen sich bei der Mehrzahl der Patienten mit Milzinfarkt plötzlich auftretende Schmerzen im linken oberen Quadranten, die häufig von Übelkeit und Fieber begleitet sind. Falls nicht, kann die Symptomatik schnell zur Fehldiagnose Wirbelsäulenbeschwerden führen.

**Cave**

Nach Milzinfarkt kann es zu einer gefährlichen Komplikation, der Milzruptur kommen.

Die diagnostische Methode der Wahl ist heutzutage die Ultraschalluntersuchung, gefolgt von der CT. Nur noch selten kommt die Magnetresonanzangiographie (MR-Angiographie) zum Einsatz.

#### Therapie

Hämodynamisch stabile Patienten werden konservativ therapiert (Guth et al. 1996). Eine Antikoagulation sollte initial aufgrund des Risikos einer Milzruptur immer mittels Heparin (Möglichkeit der Antagonisierung) durchgeführt werden. Valide Daten zur Dauer der Antikoagulation gibt es nicht. Bei rezidivierenden Schmerzen oder hinzutretenden Komplikationen im Sinne eines Abszesses oder Folgeblutung kann nach initial konservativer Behandlung eine Operation in Erwägung gezogen werden.

#### Literatur

Ammaturo C, De RA, Salzano A et al. (2001) Intestinal infarction: report of 98 cases. Chir Ital 53: 57–64

Augsburger JJ, Magargal LE (1980) Visual prognosis following treatment of acute central retinal artery obstruction. Br J Ophthalmol 64: 913–7

Batellier J, Kieny R (1990) Superior mesenteric artery embolism: eighty-two cases. Ann Vasc Surg 4: 112–6

Bolderman R, Oyen R, Verrijcken A et al. (2006) Idiopathic renal infarction. Am J Med 119: 356–12

Domanovits H, Paulis M, Nikfardjam M et al. (1999) Acute renal infarction. Clinical characteristics of 17 patients. Medicine (Baltimore) 78: 386–94

Eckstein HH (2003) Acute mesenteric ischemia. Resection or reconstruction? Chirurg 74: 419–31

Feltgen N, Neubauer A, Jurklies B et al. (2006) Multicenter study of the European Assessment Group for Lysis in the Eye (EAGLE) for the treatment of central retinal artery occlusion: design issues and implications. EAGLE Study report no. 1. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 244: 950–6

Framme C, Spiegel D, Roider J et al. (2001) Central retinal artery occlusion. Importance of selective intra-arterial fibrinolysis. Ophthalmologe 98: 725–30

Frippiat F, Donckier J, Vandenbossche P et al. (1996) Splenic infarction: report of three cases of atherosclerotic embolization originating in the aorta and retrospective study of 64 cases. Acta Clin Belg 51: 395–402

Guth AA, Pachter HL, Jacobowitz GR (1996) Rupture of the pathologic spleen: is there a role for nonoperative therapy? J Trauma 41: 214–8

Hazanov N, Somin M, Attali M et al. (2004) Acute renal embolism. Forty-four cases of renal infarction in patients with atrial fibrillation. Medicine (Baltimore) 83: 292–9

Jaroch MT, Broughan TA, Hermann RE (1986) The natural history of splenic infarction. Surgery 100: 743–50

Lessman RK, Johnson SF, Coburn JW et al. (1978) Renal artery embolism: clinical features and long-term follow-up of 17 cases. Ann Intern Med 89: 477–82

Rivers SP, Veith FJ (2000) Nonocclusive mesenteric ischemia. In: Rutherford RB (ed) Vascular Surgery, 5th edition. Philadelphia: Saunders, p 1519–23

Schumacher M, Schmidt D, Wakhloo AK (1991) Intra-arterial fibrinolysis in central artery occlusion. Radiologe 31: 240–3

Tsai FY, Wadley D, Angle JF et al. (1990) Superselective ophthalmic angiography for diagnostic and therapeutic use. Am J Neuroradiol 11: 1203–4

van Geloven AA, Biesheuvel TH, Luitse JS et al. (2000) Hospital admissions of patients aged over 80 with acute abdominal complaints. Eur J Surg 166: 866–71

# 33 Vaskulitis, Thrombophlebitits

## 33.1 Systemische Vaskulitiden

*U. Müller-Ladner*



### Einleitung

Systemische Vaskulitiden mit ihren jeweiligen Organmanifestationen stellen hohe Anforderungen sowohl an die Differenzialdiagnostik als auch an die Differenzialtherapie. Diese Herausforderungen sind v. a. durch die »chamäleonartige« Präsentation der variablen klinischen Symptome als auch durch die Vielfalt der zugrunde liegenden klinischen Entitäten bestimmt. Da Gefäße jeglicher Größe entzündlich verändert sein können, umfasst das Spektrum sowohl den Kapillarkreislauf als auch die Aorta und deren Abgänge.

Eine dauerhafte Immunsuppression ist meist die einzige Möglichkeit, die ohne Therapie hohe Morbidität und Mortalität sichtbar zu senken. Neben Steroiden kommen alle Immunsuppressiva zum Einsatz. Für schwere Organbeteiligungen steht Zyklophosphamid und in neuerer Zeit auch die biologischen Wirkstoffe wie Rituximab zur Verfügung.



### 33.1.1 Epidemiologie und Geschichte

Als Vaskulitiden werden Erkrankungen bezeichnet, die durch eine Entzündung in oder um die Gefäßwand charakterisiert sind, in der Regel gefolgt von einer Minderung der Perfusion des nachgeschalteten Gewebes oder Organs. Vaskulitiden müssen stets als systemische Erkrankungen angesehen werden und können aufgrund der ubiquitären Präsenz von Gefäßen prinzipiell an jeder Stelle des Körpers klinisch relevante Symptome verursachen. In der klinischen Praxis ist es daher unerlässlich, die zugrunde liegende Erkrankung zu identifizieren, z. B. eine Behçet-Krankheit beim Vorliegen zahlreicher mukosaler Ulzerationen.

Die ersten Beschreibungen von Vaskulitiden stammen aus dem 10. Jahrhundert, als die chirurgische Entfernung der Temporalarterie zur Therapie der Riesenzellarteriitis im Tadkwat des Ali Iba Isu empfohlen wurde, erst ca. 1.000 Jahre später erhielt diese Vaskulitis den Namen Horton-Syndrom. Vor ca. 200 Jahren stellte Heberden den Fall eines 5-jährigen Jungen vor, dessen Typ der Vaskulitis im 19. Jahrhundert als Purpura Schoenlein-Henoch benannt wurde (Heberden 1801; Henoch 1874; Schoenlein 1837). Im gleichen Zeitraum beschrieb Rokitansky die Polyarteriitis nodosa, welche aber erst später von Kussmaul und Maier genauer definiert wurde (Rokitansky 1852).

Zu Beginn des 20. Jahrhunderts fügte Osler den systemischen Lupus erythematodes zu dem wachsenden Spektrum an Vaskulitiden (Smith u. Cyr 1988), gefolgt von Takayasu. Letzterer konnte nachweisen, dass auch die Aorta nicht von einer Gefäßentzündung ausgenommen werden kann (Takayasu 1908). In den 30er Jahren beschrieben dann Klinger und Wegener einen Typ von Vaskulitis, welcher v. a. die Lunge und die Niere schädigt (Klinger 1931; Wegener 1936, 1939).

Nachfolgend beschrieb Behçet eine Form der Vaskulitis mit prominenten oralen und mukosalen Ulzera und Zeek führte 1948 den Begriff Hypersensitivitätsvaskulitis in das Spektrum der nekrotisierenden Vaskulitiden ein (Zeek et al. 1948). 1951 charakterisierten Churg und Strauss eine mit einer Akkumulation von Eosinophilen assoziierte Vaskulitis (Churg u. Strauss 1951), gefolgt von der Beschreibung eines akut auftretenden und mit Aneurysmen der Koronarien verbundenen mukokutanen Lymphknotensyndroms durch Kawasaki (Kawasaki 1976).

In den vergangenen Jahren wurden mehrere Studien durchgeführt, um die Häufigkeit und Verteilung der verschiedenen Vaskulitisformen näher zu untersuchen. Hierbei ergab sich in einer 10-Jahres-Studie, dass die Häufigkeit von primären Vaskulitiden in der Bevölkerung mit etwa 20 pro 1 Mio. Einwohner pro Jahr anzusiedeln ist (Watts et al. 2000). In Zusammenschau mit weiteren epidemiologischen Daten zu einzelnen Erkrankungen ergibt sich für die Wegener-Granulomatose eine Häufigkeit von 5–15 pro 1 Mio. Einwohner, für die Polyarteriitis nodosa 5–11 pro 1 Mio. Einwohner, für das Churg-Strauss Syndrom 1–5 pro 1 Mio. Einwohner und für die Takayasu-Arteriitis von 1 pro 1 Mio. Einwohner.

Das Auftreten von Vaskulitiden ist auch deutlich vom ethnischen Hintergrund abhängig, die Zahlen reichen von 77 pro 1 Mio. Einwohner für die Polyarteriitis nodosa bei den Ureinwohnern Alaskas bis hin zu 60 pro 1 Mio. Einwohner für die Wegener-Granulomatose in Europa und 24 pro 1 Mio. Einwohner für die arabische Bevölkerung in Kuwait. Auch die Zahl der sekundären Vaskulitiden, z. B. bei der rheumatoiden Arthritis, ist nicht zu unterschätzen. Bei einer Inzidenz von 1% der kaukasischen Bevölkerung für

die rheumatoide Arthritis ergibt sich bei einer Häufigkeit von 10% sekundärer Vaskulitiden bei dieser Erkrankung eine deutliche Präsenz im Patientengut.

### 33.1.2 Pathophysiologie und Klassifikation

Systemische Vaskulitiden stellen auch für den erfahrenen Kliniker und Rheumatologen eine Herausforderung dar, da das Spektrum und der Schweregrad der einzelnen Vaskulitiden von kaum sichtbaren Symptomen, z. B. kleiner kutaner oder mukosaler Läsionen, bis hin zu lebensbedrohlichen Situationen wie einer zerebralen Vaskulitis mit Bewusstseinsverlust oder einem entsprechenden Organausfall der Lunge oder der Nieren reicht. Trotz konstanter Fortschritte in der genetischen, molekularen und immunologischen Feinanalyse der Pathophysiologie der verschiedenen Vaskulitiden bestehen auch heutzutage noch deutliche Lücken im Verständnis derselben.

**! In der Regel basiert jede Vaskulitis auf einem genetischen Hintergrund und nach einem entsprechenden Triggerereignis wie einer viralen oder bakteriellen Infektion kommt es zu einer überschießenden Reaktion des Immunsystems an den beteiligten Gefäßen.**

Bei der Polymyalgia rheumatica ist die vorausgegangene Infektion nahezu pathognomonisch, bei der Polyarteriitis nodosa besteht eine enge Assoziation zu Hepatitis B und bei der Wegener-Granulomatose sind bestimmte Bakterienstämme wie Pseudomonaden, Streptokokken und Staphylokokken in die Pathogenese involviert.

Klinisch steht meist ein allgemeiner Leistungsverlust, oft mit Fieberschüben im Vordergrund. Dazu kommen je nach Intensität und Akuität Organdysfunktionen oder -ausfälle. Die zentralen Entzündungsparameter Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) und C-reaktives Protein (CRP) sind in der Regel – außer bei rein zerebraler Beteiligung – deutlich erhöht. Sie bieten auch einen guten Verlaufsparameter unter Therapie. Sollten Hautläsionen auftreten, sind diese bei unklarem Krankheitsbild stets zu biopsieren (Jennette u. Falk 2007).

Diese Probleme der Pathophysiologie und Differenzialdiagnostik finden sich auch in den Klassifikationskriterien der einzelnen Vaskulitiden wieder. Das American College of Rheumatology (ACR) initiierte 1990 eine Klassifikation der Vaskulitiden (Hunder et al. 1990), die bis heute Bestand hat und durch die Chapel Hill Consensus Conference 1994 ergänzt wurde (Jennette et al. 1994; Jennette u. Falk 2007). Bewährt hat sich für die tägliche klinische Praxis die Einteilung in »primäre« und »sekundäre« Vaskulitiden (Rasmussen 1997; Jeanette et al. 1997; Tab. 33.1). Die Gruppe von Kleingefäßvaskulitiden, die mit dem Auftreten von ANCA (antineutrophile zytoplasmatische Antikörper) assoziiert sind, besteht aus der Wegener-Granulomatose, der mikroskopischen Polyangiitis und einer auf die Niere limitierten Vaskulitis (Rasmussen 1997; Selamet et al. 2007).

Die primären Vaskulitiden sind nicht mit einer weiteren (rheumatischen) Grunderkrankung assoziiert, dahingegen ist die Gefäßentzündung bei den sekundären Vaskulitiden stets nur eines der Symptome der eigentlichen Erkrankung.

**Tab. 33.1.** Pathophysiologischer Hintergrund von primären und sekundären Vaskulitiden

| | |
|---|---|
| **Primäre Vaskulitiden** | |
| Große Gefäße | – Takayasu-Arteriitis (TA)<br>– Riesenzellarteriitis (RZA)<br>– Polymyalgia rheumatica (PMR) |
| Mittelgroße Gefäße | – Panarteriitis nodosa (PAN)<br>– Kawasaki-Krankheit |
| Kleine Gefäße | – Wegener-Granulomatose (WG)<br>– mikroskopische Polyangiitis (MPA)<br>– Purpura Schoenlein-Henoch<br>– leukozytoklastische Vaskulitis |
| **Sekundäre Vaskulitiden** | |
| Rheumatische und Autoimmunerkrankungen | – Systemischer Lupus erythematodes<br>– rheumatoide Arthritis<br>– Sklerodermie<br>– Dermato-/Polymyositis<br>– Sjögren-Syndrom<br>– Sarkoidose<br>– M. Crohn<br>– primär biliäre Zirrhose<br>– Autoimmunhepatitis |
| Infektionen | – Bakterielle Infektionen (Streptokokken, Borrelien, Mykobakterien, Mykoplasmen, Chlamydien)<br>– Viren (Hepatitis, HIV, Herpes, Coxsackie)<br>– Pilze<br>– Parasiten |
| Medikamente | – Antibiotika<br>– NSAR<br>– Chloroquin<br>– D-Penicillamin<br>– Gold<br>– Carbimazol<br>– ACE-Hemmer<br>– Zytostatika<br>– Dextran |
| Toxische Substanzen | – Rauchen |
| Neoplasmen | – Malignome<br>– lympho- und myeloproliferative Erkrankungen |

Für die primären Vaskulitiden besteht daneben eine direkte Relation zwischen Erkrankung und Größe des Gefäßes (Tab. 33.2) und die Histologie ist in der Regel wegweisend für die Diagnose (Tab. 33.3).

**Cave**

Es muss betont werden, dass alle derzeitig gültigen Kriterien keine Diagnose- sondern lediglich Klassifikationskriterien darstellen.

Selbst bei histologisch nachgewiesener typischer Histologie kann ein Vaskulitispatient unter Umständen die Kriterien nicht erfüllen. Auch spezifische Laborparameter fehlen in der Mehrzahl der Erkrankungen, und Aktivitätsparameter, z. B. die Antikörper gegen Proteinase-3 wie bei der Wegener-Granulomatose, sind eher die Ausnahme. Tab. 33.4 zeigt die Parameter, die eine Verbindung zwischen der sichtbaren Vaskulitis und der zugrundeliegenden Erkrankung herstellen.

## 33.1.3 Klinik

### Primäre Vaskulitiden

Die Darstellung der verschiedenen Vaskulitiden erfolgt von großen zu kleinen Gefäßdurchmessern.

#### Takayasu-Arteriitis

Die Takayasu-Arteriitis (TA) gehört zu den Großgefäßvaskulitiden. Die zumeist segmental angeordneten entzündlichen Läsionen finden sich an der Aorta und deren Abgän-

**Tab. 33.2.** Assoziation der Gefäßgröße mit dem Typ der Vaskulitis

| | Arteriolen Venolen | Kleine Arterien | Mittelgroße Arterien | Große Arterien | Aorta und deren Abgänge |
|---|---|---|---|---|---|
| – Purpura Schoenlein-Henoch<br>– Hypersensitivitätsvaskulitis<br>– leukozytoklastische Vaskulitis | + | + | | | |
| – Sekundäre Vaskulitiden bei Kollagenosen | + | + | | | |
| – Wegener-Granulomatose | + | + | + | | |
| – Churg-Strauss-Vaskulitis | | + | + | + | |
| – Poly(Pan-)arteritis nodosa | | + | + | + | |
| – Polymyalgia reumatica<br>– Riesenzellarteriitis<br>– Horton-Syndrom (Arteritis temporalis) | | | | + | + |
| – Takayasu-Arteriitis | | | | (+) | + |

**Tab. 33.3.** Typische Histologie verschiedener Vaskulitiden

| Typ der Vaskulitis | Typische Histologie |
|---|---|
| **Primäre Vaskulitiden** | |
| Polyarteriitis nodosa | Segmentäre Beteiligung, Lymphozyten, Neutrophile, fibrinoide Degeneration |
| Churg-Strauss-Syndrom | Eosinophile, extravaskuläre Granulome |
| Wegener-Granulomatose | Granulome, mononukleäre Zellen |
| Behçet-Krankheit | Mononukleäre Zellen, Neutrophile, leukozytoklastische Zelltrümmer |
| Takayasu-Arteriitis | Riesenzellen, Granulome, Lymphozyten |
| Riesenzellarteriitis | Riesenzellen, Granulome, Lymphozyten, Monozyten |
| **Sekundäre Vaskulitiden** | |
| Purpura Schoenlein-Henoch | Leukozytoklastische Zelltrümmer, entzündliche Infiltrate |
| Hypersensitivitätsvaskulitis | Mononukleäre Zellen, Neutrophile, leukozytoklastische Zelltrümmer |

**Tab. 33.4.** Wichtige klinische oder laborchemische Marker von Vaskulitiden

| Parameter | Assoziierte Erkrankung |
|---|---|
| BSG, CRP, Leukozytose | Aktive Erkrankung |
| Alter >65 Jahre | Polymyalgia rheumatica, Riesenzellarteriitis |
| Alter <40 Jahre | Takayasu-Arteriitis |
| Eosinophilie | Churg-Strauss-Syndrom |
| HLA B51 | Behçet-Krankheit |
| HLA DR4, Rheumafaktor, CCP-Antikörper | Rheumatoide Arthritis |
| Antinukleäre Antikörper | Systemischer Lupus erythematodes (sowie alle Kollagenosen) |
| Anti-Doppelstrang-DNS-Antikörper | Systemischer Lupus erythematodes |
| Antineutrophile zytoplasmatische Antikörper gegen Proteinase-3 (PR-3 ANCA) | Wegener-Granulomatose |
| Perinukleäre antineutrophile zytoplasmatische Antikörper gegen Myeloperoxidase (MPO ANCA) | Mikroskopische Polyangiitis |
| Zirkulierende Immunkomplexe | Immunkomplexvaskulitiden |

*ANCA* antineutrophile zytoplasmatische Antikörper; *BSG* Blutsenkungsgeschwindigkeit; *CCP* zyklische zitrullinierte Peptide; *CRP* C-reaktives Protein; *HLA* humanes Leukozytenantigen

gen einschließlich der Aa. mesentericae und renales (Sharma et al. 1996). Aufgrund des Befalls der Aortenabgänge, insbesondere der Aa. subclaviae, wird die Erkrankung auch »pulseless disease« genannt.

Eine Besonderheit ist der frühe Beginn der Erkrankung vor dem 40. Lebensjahr mit einer deutlichen Präferenz des weiblichen Geschlechts, wobei milde Verläufe auch erst in der 5. Dekade klinisch manifest werden können (siehe Übersicht). Insgesamt ist die Erkrankung mit einer Inzidenz von 1–3 Patienten/Jahr je Mio. Einwohner selten.

### Klassifikationskriterien der Takayasu-Arteriitis

- Alter <40 Jahre
- Claudicatio der oberen Extremitäten
- Pulslosigkeit der Radialarterien (häufig unilateral)
- Blutdruckdifferenz zwischen den Radialarterien >10 mmHg
- Stenosegeräusch über den Brachial- oder Mesenterialarterien
- pathologische Angiographie

Für die Diagnose sind 3 oder mehr Kriterien erforderlich. Die Sensitivität beträgt 90%, die Spezifität 98%.

### Riesenzellarteriitis und Polymyalgia rheumatica

Die Riesenzellarteriitis (RZA) und die Polymyalgia rheumatica (PMR) sind zwei eng verwandte Erkrankungen der mittleren bis kleinen Arterien, v. a. der hirnzuführenden Gefäße, des Schulter- und des Beckengürtels (Hunder 1997; Salvarani et al. 1997). In der Regel ist das dominante klinische Syndrom der RZA eine Störung des zerebralen Blutflusses bis hin zum apoplektischen Insult oder ausgeprägten Kopfschmerzen bei Befall der Temporalarterie (Horton-Syndrom). Bei der PMR berichtet der Patient in der Regel über eine nach einem Infekt aufgetretene (morgendliche) Steifigkeit im Schulter- und Beckengürtel.

Bei beiden Entitäten, die vor der 6. Lebensdekade praktisch nicht auftreten, finden sich ausgeprägt hohe Entzündungswerte, wobei die BSG bei der PMR sogar zu den Klassifikationskriterien gehört (siehe Übersicht). Aufgrund des hohen Lebensalters der Patienten besteht häufig eine Multimorbidität, die, in Verbindung mit den regelhaft auftretenden Allgemeinsymptomen wie Fieber und Gewichtsverlust, differenzialdiagnostisch auch an eine chronische Infektion oder maligne Erkrankungen denken lässt und die Diagnose der eigentlichen Erkrankung lange verzögern kann. Umgekehrt kann eine maligne Erkrankung v. a. die PMR vortäuschen, einschließlich der raschen Besserung der Symptome auf Kortikosteroide.

**Klassifikationskriterien der Riesenzellarteriitis und Polymyalgia rheumatica**

- (bilateraler) Schmerz oder Steifigkeit in Schultergürtel, Nacken, Beckengürtel sowie den korrespondierenden Muskelgruppen
- bilateraler Muskeldruckschmerz nach manueller Kompression
- akuter Krankheitsbeginn (<2 Wochen)
- BSG >40 mm in der ersten Stunde
- Morgensteifigkeit besteht länger als 1 h
- Alter >60 Jahre
- Depression und/oder Gewichtsverlust

Für die Diagnose sind 3 oder mehr Kriterien erforderlich. Für die Diagnose der Arteriitis temporalis genügen ein Kriterium sowie der histologische Nachweis einer Riesenzellarteriitis der A. temporalis.

## Polyarteriitis nodosa (Panarteriitis nodosa)

Die Polyarteriitis nodosa (PAN, syn. Panarteriitis nodosa) ist eine Erkrankung der kleinen und mittelgroßen Arterien. Durch zirkulierende Antigen-Antikörper-Komplexe kommt es zu Entzündungen, Flüssigkeitsextravasationen, Nekrosen und nachfolgend sowohl zu Aneurysmen als auch zur Stenosierung der betroffenen Gefäße. Eine Hepatitis-B-Infektion wie auch andere Viren können die PAN initial triggern.

Die Häufigkeit der PAN ist bei Männern doppelt so hoch wie bei Frauen, das mittlere Alter bei Beginn der Erkrankung liegt in der 5. Lebensdekade. Klinisch dominieren v. a. eine Glomerulonephritis und eine Mononeuritis multiplex, aber auch eine gastrointestinale Vaskulitis wird bei bis zu 50% der Patienten nachgewiesen (Zizic et al. 1982; Guillevin et al. 1995). Unbehandelt ist die Prognose schlecht mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von 10%. Die Übersicht zeigt die Klassifikationskriterien für die PAN.

**Klassifikationskriterien der Panarteriitis nodosa**

- Gewichtsverlust >4 kg
- Livedo reticularis
- Hodenschmerz
- Myalgie, Muskelschwäche
- Mono- oder Polyneuropathie
- diastolische Hypertonie (>90 mmHg)
- Kreatinin>1,5 mg/dl oder
- Serum-Harnstoff >40 mg/dl
- Hepatitis-B-Antigen (HB) positiv
- Angiographie: Aneurysmen, Verschlüsse
- pathologische Histologie

Für die Diagnose sind 3 oder mehr Kriterien erforderlich. Die Sensitivität beträgt 82%, die Spezifität 86%.

## Kawasaki-Syndrom (mukokutanes Lymphknotensyndrom)

Das Kawasaki-Syndrom (»Kawasaki‘s disease«, KD) wurde zunächst in Japan bzw. im asiatischen Raum beschrieben (Kawasaki 1976). Die europäischen und nordamerikanisch-kaukasischen Kinder, aber auch die afroamerikanischen Kinder sind seltener betroffen. Die jährliche Inzidenz der KD in Japan beträgt 700–800 pro 1 Mio. Einwohner. Sie kann kurzzeitig auf 4.000–5.000 pro 1 Mio. Einwohner »epidemisch« ansteigen.

In der Regel sind die betroffenen Kinder jünger als 5 Jahre, es besteht eine leichte Präferenz für Mädchen. Wahrscheinlich triggern verschiedene Viren die Vaskulitis, wobei bisher keine Spezifität für einen Virustyp nachgewiesen werden konnte.

Für eine Diagnose wurden 6 Kardinalsymptome (siehe Übersicht) etabliert. Neben der kutanen Symptomatik sind v. a. auch die gastrointestinalen Symptome mit Bauchschmerzen, Übelkeit und Erbrechen sowie Diarrhoen häufig zu finden. Die eigentliche Gefäßentzündung läuft in mehreren Phasen ab: Perivaskulitis, fokale Panvaskulitis, Granulombildung, gefolgt von Stenosen und Aneurysmenbildung.

**Hauptsymptome des Kawasaki-Syndroms**

- therapieresistentes hohes Fieber >5 Tage
- zusätzlich 4 der folgenden Symptome:
  - polymorphes Exanthem
  - periphere Hautläsionen (Erytheme, induratives Ödem, membranöse Hautablösung)
  - orale Läsionen, Pharyngitis, Enanthem, »Himbeerzunge«
  - bilaterale Konjunktivitis
  - akute nicht abszedierende zervikale Lymphadenopathie
- Zusatzsymptom: Koronaraneurysmen

## Wegener-Granulomatose

Die Wegener-Granulomatose (WG) ist durch eine nekrotisierende granulomatöse Vaskulitis der oberen und unteren Atemwege und der Niere gekennzeichnet (Fauci u. Wolff 1973; Fauci et al. 1983; Schmitt u. Gross 1998). Eine Granulombildung kann im gesamten Körper auftreten, besonders prominent sind sie in der Lunge und in den Nasennebenhöhlen. Eine Sonderform ist der sogenannte »Kopf-Wegener«. Hier beschränkt sich die Symptomatik auf den Nasen-Rachen-Raum und die Nasennebenhöhlen.

Die WG zeigt eine deutliche Präferenz für Nordeuropa bzw. Nordamerika, Patienten am Äquator bzw. aus der afroamerikanischen Bevölkerung machen nur 3% aller WG-Patienten aus. Die WG kann in jedem Lebensalter auftreten

und betrifft Frauen wie Männer gleichermaßen. Die Übersicht zeigt die Klassifikationskriterien der WG.

**Klassifikationskriterien der Wegener-Granulomatose**

- rezidivierende nasale oder orale Entzündungen (Ulzerationen, blutiger Ausfluss)
- noduläre oder flüchtige pulmonale Infiltrationen, Kavernenbildung
- nephritisches Urinsediment
- Histologie: granulomatöse (peri-)vaskuläre Entzündung

Für die Diagnose sind 2 oder mehr Kriterien erforderlich. Die Sensitivität beträgt 88%, die Spezifität 92%.

Anmerkung: Trotz ihrer Spezifität (>90%) sind c-ANCA kein Klassifikationskriterium.

### Churg-Strauss-Syndrom

Das Churg-Strauss-Syndrom (CSS) wurde zunächst als »allergische Angiitis und Granulomatose« bezeichnet, was die bei dieser Vaskulitis typische Assoziation zwischen allergischen Phänomenen wie Asthma und Eosinophilie mit der eigentlichen Gefäßentzündung deutlich macht. Histologisch finden sich typischerweise perivaskulär eine hohe Anzahl eosinophiler Granulozyten, im peripheren Blut können diese bis zu 50% der Gesamtleukozytenzahl ausmachen. Die in der Übersicht dargestellten Klassifikationskriterien berücksichtigen diese Assoziation. Patienten mit einem CSS befinden sich in der Regel in der 4. Lebensdekade, dem Vollbild gehen aber meist einige Jahre einer (un)spezifischen Prodromalphase mit asthmoiden Anfällen, allergischen Hautreaktionen, chronischer Sinusitis oder Pollinose voraus (Lanham et al. 1984). Auch hier sind Männer doppelt so häufig betroffen wie Frauen.

**Klassifikationskriterien des Churg-Strauss-Syndroms**

- pulmonale asthmatische Beschwerden
- Eosinophilie >10%
- Mono- oder Polyneuropathie
- wechselnde oder transiente pulmonale Infiltrate
- chronische Sinusitis
- Histologie: perivaskuläre eosinophile Infiltrate

Für Diagnose sind 4 oder mehr Kriterien erforderlich. Die Sensitivität beträgt 85%, die Spezifität 89%.

### Behçet-Krankheit

Die Behçet-Krankheit (sprich: Bächtschet) weist eine der stärksten genetischen Komponenten aller Vaskulitiden auf, was sich insbesondere in der Assoziation mit HLA B51 zeigt. Die höchsten Inzidenzen finden sich im Mittelmeerraum und auf den entsprechenden Breitengraden in Nah- und Fernost mit Zahlen von bis zu 3.000 pro 1 Mio. Einwohner in der Türkei.

Die Behçet-Krankheit gilt als Kleingefäßvaskulitis mit der prominenten Symptomatik von rezidivierenden oralen und genitalen Ulzera, häufig in Kombination mit einer Uveitis (siehe Übersicht; Shimizu et al. 1979; Kaklamanis et al. 1998). Die Symptomatik der Behçet-Krankheit kann sehr vielfältig sein und andere Vaskulitiden imitieren (Uziel et al. 1998). In bestimmten Regionen wie Japan ist der Gastrointestinaltrakt besonders häufig betroffen, dort zeigen bis 30% der Patienten segmental angeordnete mukosale Läsionen. Auch venöse Gefäßentzündungen mit konsekutiven Thrombosen wie beim Budd-Chiari-Syndrom sowie Pankreatitiden können auftreten (Saatci et al. 1993). Die Geschlechtsverteilung ist ausgewogen, Männer weisen aber häufig die schwereren Verläufe auf.

**Klassifikationskriterien der Behçet-Krankheit**

- rezidivierende orale Ulzerationen (>3-mal/Jahr)
- zusätzlich 2 der folgenden Symptome:
  - rezidivierende genitale Ulzerationen
  - Uveitis, Iritis oder retinale Vaskulitis
  - Hautläsionen (z. B. Erythema nodosum, akneiforme oder papulopustulöse Läsionen, Pseudofollikulitis)
  - Pathergie (papulopustulöse Läsion nach kutaner Injektion von 0,9% NaCl nach 24–48 h)

Für Diagnose sind 4 oder mehr Kriterien erforderlich. Die Sensitivität beträgt 85%, die Spezifität 99%.

### Entzündliche mesenteriale Venookklusion

1997 wurden die Vaskulitiden durch eine neue Entität erweitert (Lie 1997): die »mesenteric inflammatory venoocclusive disease« (MIVOD). Sie ist durch eine Entzündung der kleinen Mesenterialgefäße charakterisiert. Es können sowohl Arterien als auch Venen beteiligt sein. Histologisch dominieren lymphozytäre Infiltrate und Thrombosen. Der nachfolgende Gefäßverschluss und die Darmischämie müssen in der Regel chirurgisch versorgt werden.

## Sekundäre Vaskulitiden

### Purpura Schoenlein-Henoch und leukozytoklastische Vaskulitis

Die Purpura Schoenlein-Henoch ist eine generalisierte Vaskulitis der kleinen bis mittelgroßen Arterien, die als Reaktion auf eine immunologische Aktivierung mit zirkulierenden Immunkomplexen auftritt. IgA ist eine der Hauptkomponenten dieser Immunkomplexe. Der Begriff leukozytoklastische Vaskulitis reflektiert die um die Gefäße liegenden zugrundegehenden Leukozyten, die allerdings nicht nur bei der Purpura Schoenlein-Henoch auftreten.

Die pathophysiologische Ursache ist nicht bekannt, allerdings beginnt diese Vaskulitis häufig nach bakteriellen Infekten des Respirationstrakts (Dillon 2007). Neben der Hautvaskulitis kann eine Gelenkentzündung und eine akute Glomerulonephritis auftreten. Interessanterweise ist bei den zum größten Teil jungen Patienten der Gastrointestinaltrakt mit vaskulitischen Blutungen, Diarrhoe und ileozökalen Ulzera überdurchschnittlich häufig beteiligt (bis zu 90%; Saulsbury 1999). Die Prognose der Erkrankung ist gut, solange keine Nierenbeteiligung eintritt. Die Purpura Schoenlein-Henoch weist auch Parallelen zum familiären Mittelmeerfieber auf, v. a. hinsichtlich der Läsionen des Gastrointestinaltrakts (Ozdogan et al. 1997).

Die leukozytoklastische Vaskulitis ist mit der Purpura Schoenlein-Henoch nahe verwandt, erstere betrifft aber in der Regel Patienten im mittleren Lebensalter, v. a. Frauen. Wie bereits erwähnt resultiert der Name aus der fibrinoiden Nekrose der Gefäßwand und der Akkumulation abgestorbener polymorphkerniger Leukozyten.

### Rheumatoide Vaskulitis

Obwohl die Reduktion der Gelenkentzündung und -destruktion das wichtigste klinische Ziel in der Behandlung der rheumatoiden Arthritis (RA) darstellt, ist die im Rahmen der Grunderkrankung auftretende Klein- bis Mittelgefäßarthritis in ihrer Bedeutung nicht zu unterschätzen. Es wird angenommen, dass bis zu 10% der RA-Patienten eine aktive sekundäre Vaskulitis haben, bei Untersuchungen post mortem ließen sich intrapulmonal bei ca. 70% der Patienten eine vaskulitische Reaktion der Lungengefäße nachweisen.

Histologisch steht hierbei nicht die Entzündung sondern eher die intensive Intimaproliferation und die nachfolgenden Stenosen im Vordergrund. Diese Gefäßbeteiligung dürfte mit ein Grund für die gesteigerte kardiovaskuläre Mortalität der RA-Patienten darstellen. Die Vaskulitis der kleinen portalen Lebergefäße spielt bei einer schweren systemischen Form der RA, dem Felty-Syndrom, eine große Rolle (Rosenstein u. Kramer 1991).

### Vaskulitiden bei Kollagenosen

Der Begriff Kollagenosen bezeichnet eine Gruppe von Erkrankungen, die sich vorwiegend an den verschiedenen Bestandteilen des Bindegewebes abspielen. Hierzu gehören der systemische Lupus erythematodes, die systemische Sklerose (Sklerodermie), die Polymyositis bzw. Dermatomyositis, das Sjögren-Syndrom, das Sharp-Syndrom (Mischkollagenose mit U1RNP-Antikörpern) und undifferenzierte Kollagenosen. Gefäße sind ein integraler Bestandteil des Bindegewebes, daher ist eine sekundäre Vaskulitis im Rahmen einer Kollagenose auch in der Regel eine Kleingefäßvaskulitis. Die wichtigste Erkrankung hierbei ist der systemische Lupus erythematodes, da durch die Vaskulitis und die Immunkomplexablagerungen häufig die klinisch führenden Glomerulonephritiden mitbedingt sind.

### Thrombangitis obliterans (Winiwarter-Buerger-Krankheit)

Die Thrombangitis obliterans weist eine starke Prädominanz für Männer mit starkem Nikotinabusus auf (Shigematsu u. Shigematsu 1999). In der Regel sind einzelne mittelgroße oder kleine Digitalarterien betroffen, diese können bei Fortsetzen des Nikotinabusus okkludieren und zum Verlust von Fingern oder Zehen führen. Auch die mesenterialen Gefäße können betroffen sein.

Es wird angenommen, dass die Vaskulitis durch eine (allergische) Reaktion auf Antigene im Zigarettenrauch ausgelöst wird, wobei der spezifische Trigger bis jetzt noch nicht identifiziert werden konnte. Die Beendigung des Nikotinabusus stellt die einzig effektive Therapieoption dar.

### Kryoglobulinämische Vaskulitis

Die kryoglobulinämische Vaskulitis zeichnet sich durch zirkulierende Immunglobuline oder Immunkomplexe aus, die aus Immunglobulinen und dagegen gerichtete Antikörper bestehen und bei niedrigen Temperaturen (reversibel) ausfallen. Die Kryoglobulinämie Typ I basiert auf der Aggregation von monoklonalem IgM (Waldenström-Krankheit), Typ II bzw. III sind gemischte Kryoglobulinämien mit Komplexen aus IgG und monoklonalem Immunglobulin (IgM/Rheumafaktoren) bzw. polyklonalem Immunglobulin (meist IgM).

Die Immunkomplexe lagern sich v. a. bei Kälte an den Wänden der kleinen Arterien und Venen ab und induzieren eine immunkomplexvermittelte Entzündung. Die kryoglobulinämische Vaskulitis Typ II tritt v. a. bei einer Hepatitis-C-Infektion auf (80–90%), aber auch bei anderen Infektionen, bei Autoimmunerkrankungen sowie lymphoproliferativen Erkrankungen.

Histologisch findet man neben der Vaskulitis homogen mit eosinophilem Material gefüllte Gefäßlumina. Die klinischen Symptome manifestieren sich als palpable Purpura, Nekrosen und Ulzerationen.

### 33.1.4 Therapie

Die Wahl des jeweiligen Therapieregimes wird sowohl durch den Typ der zugrunde liegenden Vaskulitis als auch durch das Ausmaß der Organbeteiligung bestimmt. Kortikosteroide stellen die Basis aller Therapieschemata dar, insbesondere bei der Induktion einer Remission, zum Abfangen von Schüben und in niedriger Dosierung als Langzeittherapie. Cyclophosphamid hingegen ist die Substanz der Wahl für akut lebensbedrohliche Situationen oder drohende Organausfälle (Selamet et al. 2007; Aries et al. 2007). Eine Anpassung nach Lebensalter und Nierenfunktion wird empfohlen (Mukhtyar et al. 2009).

Alle anderen Immunsuppressiva wie Azathioprin, Methotrexat, Mycophenolat, Tacrolimus, Leflunomid und Cyclosporin und in jüngerer Zeit biologische Wirkstoffe, v. a. Rituximab, bei der RA auch TNF-Hemmer (Golbin u. Specks 2007), dienen nicht nur dem Remissionserhalt, es gibt auch Hinweise, dass u. a. Methotrexat und Mycophenolat bei moderaten Formen der Wegener-Granulomatose ebenfalls Remissionen induzieren können (Selamet et al. 2007; Henes et al. 2007; Chebab et al. 2007; Brihaye et al. 2007; Aries et al. 2007; Mukhtyar et al. 2009; ▪ Tab. 33.5 und 33.6). Für weitere Immunsuppressiva wie 15-Deoxyspergualin und Antithymozytenglobulin existieren noch keine Daten, die einen Einsatz in der klinischen Routine rechtfertigen würden (Mukhtyar et al. 2009).

Das Ausschleichen der Kortikosteroide kann Wochen bis Jahre dauern, insbesondere bei der Polymyalgia rheumatica, bei der manche Patienten sogar bei Reduktionsschritten von 1 mg von einer Aktivitätsänderung berichten.

#### Notfalltherapie systemischer Vaskulitiden

Für akute und organgefährdende (Niere, Lunge, Herz, Gehirn) Verläufe haben sich sowohl die gepulste Gabe von Zyklophosphamid (Austin-Schema: 15–20 mg/kgKG alle 4 Wochen) als auch die orale Gabe (Fauci-Schema: 2 mg/kgKG täglich) in Kombination mit Prednisolon 2 mg/kgKG täglich für alle Vaskulitiden bewährt (Adu et al. 1997; Amoura et al. 1990; Gayraud et al. 1997; Haubitz et al. 1998).

Nach 3–6 Monaten kann bei Ansprechen dann auf ein remissionserhaltendes Immunsuppressivum wie Azathioprin, Methotrexat oder Mycophenolat umgesetzt werden. Beachtet werden muss unter Cyclophosphamid der Blasenschutz mit Mesna sowie der Gonadenschutz mit Gonadotropin-Releasing-Hormon-Analoga.

#### Antibiose bei Wegener-Granulomatose

Trotz der fehlenden Nachweise eines spezifischen infektiösen Triggers kann Cotrimoxazol (2-mal 960 mg/Tag p.o.,

▪ **Tab. 33.5.** Therapieschemata für aktive Vaskulitiden

| | Typ der Vaskulitis | Dosierung |
|---|---|---|
| **Remissionsinduzierende Therapeutika (First-Line-Therapie)** | | |
| Prednisolon | Alle Vaskulitiden[a] | 1–1,5 mg/kgKG/Tag p.o. (RZA: min. 1,5 mg/kgKG, Ischämie des N. opticus: 1 g/Tag i.v. für 3 Tage) |
| Cyclophosphamid | WG[a], PAN, MPA[a]; CSS (schwere Fälle) | 2–4 mg/kgKG/Tag p.o. (in Kombination mit Steroiden) |
| Cotrimoxazol | WG (moderate Aktivität)[a] | 2-mal 960 mg/Tag p.o. |
| Immunglobuline | Kawasaki-Syndrom[a] | 2 g/kgKG/Tag i.v. (in Kombination mit Acetylsalicylsäure 80–100 mg/kgKG/Tag p.o.) |
| Methotrexat | Alle Vaskulitiden[a] (bei moderater Aktivität) | 7,5–30 mg/kgKG/Woche p.o./i.v. (+5 mg Folsäure p.o. 24 h später) |
| **Reservemedikation (Second-Line-Therapie)** | | |
| Azathioprin | SLE[a] | 2–4 mg/kgKG/Tag (6-Thioguanin-Spiegel im Serum entsprechend des Referenzbereichs des Labors) |
| Prednisolonpulstherapie | Alle Vaskulitiden[a] | 250–500 mg/Tag p.o/i.v für 3 Tage alle 4 Wochen |
| Cyclophosphamid | Alle Vaskulitiden[a] | 2–4 mg/kgKG/Tag p.o. *oder*<br>750–1.000 mg/m² alle 4 Wochen i.v. |

[a] Unterstützt durch klinische Studien
[b] Zur Remissionsinduktion bei persistierender Aktivität oder wenn der Prednisolonbedarf 7,5 mg/Tag übersteigt
*CSS* Churg-Strauss-Syndrom; *PAN* Poly(Pan)arteriitis nodosa; *PMR* Polymyalgia rheumatica; *RZA* Riesenzellarteriitis; *SLE* systemischer Lupus erythematodes; *TA* Takayasu-Arteriitis; *WG* Wegener-Granulomatose

Reduktion bei Ansprechen auf Gabe jeden 2. Tag möglich) bei milden bis moderaten Formen v. a. im oberen Respirationstrakt Erfolg zeigen (de Groot et al. 1996; Israel 1988; Stegeman et al. 1996). Als Alternative kann Methotrexat zum Einsatz kommen (Handrock et al. 1994; Langford et al. 1999), sowohl initial als auch zum Erhalt der Remission.

### Kortikosteroidtherapie bei Riesenzellarteriitis und Polymyalgia rheumatica

RZA und PMR sprechen in der Regel sehr gut auf eine Monotherapie mit Kortikosteroiden in einer Dosis von 0,5–1 mg/kgKG p.o. an (Dasgupta u. Hassan 2007). Die Reduktion der Steroiddosis erfolgt nach Klinik und Entzündungszeichen. Bewährt hat sich eine Reduktion von 10 mg/Woche bis 30 mg/Tag, danach 5 mg/Woche bis 15 mg/Tag, gefolgt von einer Reduktion um 2,5 mg/Woche bis zur Erhaltungsdosis von 5 mg/Tag. Der Wert von anderen Immunsuppressiva ist umstritten (De Silva u. Hazleman 1986; Schaufelberger et al. 1998; Van der Veen et al. 1996; Hoffman et al. 2007; Dasgupta u. Hassan 2007; Mukthyar et al. 2009). Bei RZA wird aufgrund jüngerer Daten auch die zusätzliche Gabe von niedrig dosierter Acetylsalicylsäure empfohlen (Mukthyar et al. 2009). Geachtet werden sollte stets auf eine ausreichende Osteoporoseprophylaxe mit Kalzium und Vitamin D, ggf. auch mit Bisphosphonaten bei ausgeprägterer Osteopenie oder Osteoporose.

### Seltene Vaskulitiden

Nahezu alle Immunsuppressiva wurden mittels Studien bei der Behçet-Krankheit untersucht. Hierzu gehören Azathioprin, Ciclosporin, Methotrexat, Leflunomid und TNF-Hemmer (Hamuryudan et al. 1997; Yazici et al. 1990; Masuda et al. 1989; Lee et al. 2007). Interessanterweise kann auch durch den antimitotischen Effekt von Colchizin (0,5–1 mg/Tag) die Krankheitsaktivität niedrig gehalten werden (Raynor u. Askari 1980), daneben ist Interferon bei einigen Patienten Medikament der Wahl. Die Standardtherapie des Kawasaki-Syndroms sind Immunglobuline, wobei die Empfehlung zur Therapiefrequenz eher zu einer Einmalgabe als zu dem bisher angewandten 4-Tages-Protokoll tendiert (Pinna 2008).

Durch die Assoziation von Hepatitis-B-Infektion mit PAN wurden auch antivirale Therapieschemata in Kombination mit einer Plasmapherese mit gutem Erfolg eingesetzt (Guillevin 1993). Auch mit einer Sarkoidose assoziierte Vaskulitiden oder kryoglobulinassoziierte Vaskulitiden können auf moderne Immunsuppressiva wie TNF-Hemmer ansprechen (Tab. 33.7; Cruz et al. 2007; Ahmed u. Wong 2007).

**Tab. 33.6.** Therapieoptionen zum Remissionserhalt bei verschiedenen Vaskulitiden

| Remissionserhaltende Therapie | Typ der Vaskulitis | Dosierung |
|---|---|---|
| Niedrigdosiertes Prednisolon | Alle Vaskulitiden | 5 (–7,5) mg/Tag p.o. |
| Azathioprin | PAN, SLE, CSS, PMR, BK[a] | 2–4 mg/kgKG/Tag (6-Thioguanin-Serumspiegel entsprechend des Referenzbereichs des Labors) |
| Methotrexat | PAN, SLE, WG[a], PMR, RZA, CSS, TA[a] | 7,5–30 mg/kgKG/Woche p.o./i.v. (+5 mg Folsäure p.o. nach 24 h) |
| Cyclophosphamid | PAN[a], SLE, WG[a], PMR, MPA[a], RZA, BK[a] | 2–4 mg/kgKG/Tag p.o. oder 750–1.000 mg/m² alle 4 Wochen i.v. |
| Cotrimoxazol | WG | 2-bis 3-mal 960 mg/Woche p.o. |
| Ciclosporin A | SLE, BK | 3–5 mg/kgKG/Tag p.o. nach Serumspiegel |
| Sulfasalazin | BK | 2–4,5 g/Tag p.o. |
| Leflunomid | SLE | 10–20 mg/Tag p.o. |
| Colchizin | BK[a] | 0,5–1 mg/Tag |
| Mycophenolat | SLE | 2–3 g/Tag p.o. |
| Tacrolimus | SLE | 0,1–0,3 mg/kgKG/Tag p.o. |
| TNF-Hemmer | RA (WG, SLE nur in Ausnahmefällen) | 3–10 mg/kgKG alle 4–8 Wochen i.v. (Infliximab);<br>50 mg/Woche s.c. (Etanercept);<br>40 mg s.c. alle 2 Wochen (Adalimumab) |
| Rituximab | WG | 1.000 mg i.v. in Woche 0 und 2, Wdh. nach 4–8 Monaten *oder* 375 mg/m² in Woche 0, 4, 8, 12, Wdh. nach 4–8 Monaten |

[a] Unterstützt durch klinische Studien

*BK* Behçet-Krankheit; *CSS* Churg-Strauss-Syndrom; *MPA* mikroskopische Polyangiitis; *PAN* Poly(Pan)arteriitis nodosa; *PMR* Polymyalgia rheumatica; *RZA* Riesenzellarteriitis; *SLE* systemischer Lupus erythematodes; *TA* Takayasu-Arteriitis; *WG* Wegener-Granulomatose

**Tab. 33.7.** Experimentell oder im Rahmen von Fallberichten verwendete Therapeutika zum Remissionserhalt bei verschiedenen Vaskulitiden

| Therapeutikum | Typ der Vaskulitis |
|---|---|
| Colchizin/Penizillin | BK |
| Intravenöses Immunglobulin | WG, PSH |
| Cyclosporin A | MCTD |
| Thalidomid | BK, SLE |
| Mycophenolat | SLE |
| Sulfasalazin | BK |
| Plasmapherese | WG, PSH |
| Interferon α | BK |
| Antivirale Therapie, Plasmaaustausch | PAN/CSS |
| Prednisolon/Cyclophosphamid | PSH-Nephritis |
| Cumarine/Dipyridamol | PSH-Nephritis |
| Factor XIII | PSH |
| TNF-Hemmer | Alle Vaskulitiden, Sarkoidose |
| Rituximab | Alle Vaskulitiden |

*BK* Behçet-Krankheit; *CSS* Churg-Strauss-Syndrom; *MCTD* Mischkollagenose; *MPA* mikroskopische Polyangiitis; *PAN* Polyarteriitis (Panarteriitis) nodosa; *PMR* Polymyalgia rheumatica; *PSH* Purpura Schoenlein-Henoch; *RA* rheumatoide Arthritis; *RZA* Riesenzellarteriitis; *SLE* systemischer Lupus erythematodes; *TA* Takayasu-Arteriitis; *WG* Wegener-Granulomatose

### 33.1.5 Zusammenfassung

**Bei jeglichem Verdacht auf eine Vaskulitis sollten zunächst die Organfunktionen untersucht und das Ausmaß der Beteiligung festgestellt werden. Parallel dazu sollten die möglichen Klassifikationskriterien geprüft und die Erkrankung eingeordnet werden.**

Primäres Therapieziel ist dann die Induktion einer Remission und die nachfolgende Überführung in einen dauerhaften Erhalt dieser Remission mit möglichst geringem Einsatz an Immunsuppressiva und/oder Kortikosteroiden. Mit dieser Strategie können heutzutage die oft rasch tödlichen Verläufe auf ein Minimum reduziert werden. Entsprechende Empfehlungen zur Therapie der Groß- und Kleingefäßvaskulitiden wurden auch vor kurzem von der europäischen Fachgesellschaft für Rheumatologie (EULAR) veröffentlicht (Mukthyar et al. 2009).

## Literatur


Adu D, Pall A, Luqmani RA et al. (1997) Controlled trial of pulse versus continuous prednisolone and cyclophosphamide in the treatment of systemic vasculitis. Quarterly Medical Journal 90: 401–409

Ahmed MS, Wong CF 2007) Should rituximab be the rescue therapy for refractory mixed cryglobulinemia associated with hepatitis C. J Nephrol 20: 350–356

Aktulga A, Altaç M, Müftrüoglu A et al. (1980) A double blind study of colchizine in Behçet's disase. Haematologica 65: 399–402

Amoura Z, Choukroun G, Royer I et al. (1990) Treatment of systemic diseases with pulse cyclophosphamide: 15 cases. Ann Med Int 141: 416–420

Aries PM, Lamprecht P, Gross WL (2007) Biological therapies: new treatment options for ANCA-associated vasculitis. Expert Opin Biol Ther 7: 521–533

Brihaye B, Aouba A, Pagnoux C et al. (2007) Adjunction of rituximab to steroids and immunosuppressants fro refractory/relapsing Wegener's granulomatosis: a study on 8 patients. Clin Exp Rheumatol 25 (1 Suppl 44): S23–S27

Chehab G, Sander O, Fischer-Betz R, Schneider M (2007) Anti-CD20 therapy for inducing and maintaing remissionin refractory systemic lupus erythematosus. Z Rheumatol 66(4): 328, 330–6

Churg J, Strauss L (1951) Allergic granulomatosis, allergic angiitis, and periarteritis nodosa. Am J Pathol 27: 277–301

Cruz BA, Reis DD, Araujo CA, for the Minas Gerais Vasculitis Study Group (2007) Refractory retinal vasculitis due to sarcoidosis successfully treated with infliximab. Rheumatol Int 27(12): 1181–3

Dasgupta B, Hassan N (2007) Giant cell arteritis: recent advances and guidelines for management. Clin Exp Rheumatol 25: S62–S65

De Groot K, Reinhold-Keller E, Tatsis E et al. (1996) Therapy for the maintenance of remission in sixty-five patients with generalized Wegener's granulomatosis. Methotrexate versus trimethoprim/sulfamethoxazole. Arthritis Rheum 39: 2052–2061

De Silva J, Hazleman BL (1986) Azathioprine in giant cell arteritis/polymyalgia rheumatica: a double-blind study. Ann Rheum Dis 45: 136–138

Dillon MJ (2007) Henoch-Schoenlein purpura: recent advances. Clin Exp Rheumatol 25: S66–S68

Fauci AS, Wolff SM (1973) Wegener's granulomatosis: studies in eighteen patients and a review of the literature. Medicine 52: 53–61

Fauci AS, Haynes BF, Katz P, Wolff SM (1983) Wegener's granulomatosis: prospective clinical and therapeutic experience with 85 patients for 21 years. Ann Int Med 98: 76–85

Gayraud M, Guillevin L, Cohen P et al. (1997) Treatment of good-prognosis polyarteritis nodosa and Churg-Strauss syndrome: comparison of steroids and oral or pulse cyclophosphamide in 25 patients. French Cooperative Study Group for Vasculitides. Br J Rheumatol 36: 1290–1297

Golbin JM, Specks U (2007) Synopsis of B-lymphocyte targeted therapy of ANCA-assoiated vasculitis. Clin Exp Rheumatol 25: S74–S76

Guillevin L, Lhote F, Gallais V et al. (1995) Gastrointestinal tract involvement in polyarteritis nodosa. Ann Med Int 146: 260–267

Guillevin L, Lhote F, Leon A et al. (1993) Treatment of polyarteritis nodosa related to hepatitis B with short-term therapy with anti-viral agents and plasma exchanges. A prospective trial in 33 patients. J Rheumatol 20: 289–298

Hamuryudan V, Ozyazgan Y, Hizli N et al. (1997) Azathioprine in Behçet's syndrome: effects on long-term prognosis. Arthritis Rheum 40: 769–774

Handrock K, Reinhold-Keller E, Heller M et al. (1994) Beneficial effects of low-dose methotrexate (MTX) in Wegener's granulomatosis. Arthritis Rheum 37: 353–359

Haubitz M, Schellong S, Göbel U et al. (1998) Intravenous pulse administration of cyclophosphamide versus daily oral treatment in patients with antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis and renal involvement. Arthritis Rheum 41: 1835–1844

Heberden W (1801) Commentari di morboriana-historia et curatione. London: Payne
Henes JC, Fritz J, Koch S et al. (2007) Rituximab for treatment-resistant extensive Wegener's granulomatosis-additive effects of a maintenance treatment with leflunomide. Clin Rheumatol 26(10): 1711–5
Henoch E (1874) Über eine eigenthümliche From von Purpura. Berliner Klinische Wochenschrift 11: 641–643
Hoffman GS, Cid MC, Rendt-Zagar KE et al. (2007) Infliximab for maintenance of glucocorticosteroid-induced remission of giant cell arteritis: a randomized trial. Ann Intern Med 146: 621–630
Hunder GG, Arend WP, Bloch DA et al. (1990) The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of vasculitis: Introduction. Arthritis Rheum 33: 1065–1067
Hunder GG (1997) Giant-cell arteritis and polymyalgia rheumatica. Med Clin N Am 81: 195–219
Israel HL (1988) Sulfamethoxazole-trimethoprim therapy for Wegener's granulomatosis. Arch Int Med 148: 2293–2295
Jennette JC, Falk RJ, Andrassy K et al. (1994) Nomenclature of systemic vasculitides. Proposal of an international consensus conference. Arthritis Rheum 37: 187–192
Jennette JC, Falk RJ (1997) Small vessel vasculitis. N Engl J Med 337: 1512–1523
Jennette JC, Falk RJ (2007) The role of pathology in the diagnosis of systemic vasculitis. Clin Exp Rheumatol 25: S52–S56
Kaklamanis VG, Vaipoulos G, Kaklamanis PG (1998) Behçet's disease. Semin Arthritis Rheum 27: 197–217
Kawasaki T (1976) Febrile oculo-oro-cutaneo-acrodequamatous syndrome with or without acute non-suppurative: clinical observations of 50 cases. Japan J Allergy 16: 178–222
Klinger H (1931) Grenzformen der Periarteritis nodosa. Frankfurter Zeitschrift für Pathologie 42: 455–480
Langford CA, Talar-Williams C, Barron KS, Sneller MC (1999) A staged approach to the treatment of Wegener's granulomatosis: induction of remission with glucocorticoids and daily cyclophosphamide switching to methotrexate for remission maintenance. Arthritis Rheum 42: 2666–2673
Lanham JG, Elkon KB, Pusey CD, Hughes GR (1984) Systemic vasculitis with asthma and eosinophilia: A clinical approach to the Churg-Strauss syndrome. Medicine 63: 65–81
Lee JH, Kim TN, Choi ST et al. (2007) Remission of intestinal Behçet's disease treated with anti-tumor necrosis factor alpha monoclonal antibdy (infliximab). Korean J Intern Med 22: 24–27
Lie JT (1997) Mesenteric inflammatory veno-occlusive disease (MIVOD): an emerging and unsuspected cause of digestive tract ischemia. Vasa 26: 91–96
Masuda K, Nakajima A, Urayama A et al. (1989) Double masked trial of cyclosporine versus colchicine in long-term open study of cyclosporine in Behçet's disease. Lancet 1: 1093–1095
Mukhtyar C, Guillevin L, Cid MC et al. (2009) EULAR recommendations for the management of primary small and medium vessel vasculitis. Ann Rheum Dis 68: 310–317
Mukhtyar C, Guillevin L, Cid MC et al. (2009) EULAR recommendations for the management of large vessel vasculitis. Ann Rheum Dis 68: 318–233
Ozdogan H, Arisoy N, Kasapcapur D et al. (1997) Vasculitis in familial Mediterranean fever. J Rheumatol 24: 323–327
Pinna GS, Kafetzis DA, Tselkas OI, Skevaki CL (2008) Kawasaki disease: an overview. Curr Opin Infect Dis 3: 263–270
Rasmussen N (1997) Consensus therapeutic regimens for ANCA-associated systemic vasculitis. The European Community Systemic Vasculitis Study Group. Lancet 349: 1029–1030
Raynor A, Askari AD (1980) Behçet's disease and treatment with colchicine. J Am Acad Dermatol 2: 396–400
Rokitansky K (1852) Über einige der wichtigsten Krankheiten der Arterien. Denkschriften der Akademie der Wissenschaften 4: 49
Rosenstein ED, Kramer N (1991) Felty's and pseudo-Felty's syndromes. Semin Arthritis Rheum 21: 129–142
Saatci I, Ozmen M, Balkanci F et al. (1993) Behçet's disease in the etiology of Budd-Chiari disease. Angiology 44: 392–398
Salvarani C, Macchioni P, Boiardi L (1997) Polymyalgia rheumatica. Lancet 350: 43–47
Saulsbury FT (1999) Henoch-Schoenlein purpura in children: report of 100 patients and review of the literature. Medicine 78: 395–409
Schaufelberger C, Anderson R, Nordborg E (1998) No additive effect of cyclosporin A compared with glucocorticoid treatment alone in giant cell arteritis: results of an open, controlled, randomized study. Br J Rheumatol 37: 464–465
Schmitt WH, Gross WL (1998) Vasculitis in the seriously ill patient: diagnostic approaches and therapeutic options in ANCA-associated vasculitis. Kidney Int 64 (Supplement): S39–S44
Schoenlein J 1837 () Allgemeine und specielle Pathologie und Therapie, Vol. 2. Herisau: Literatur-Comptoir, S 48
Selamet U, Kovaliv YB, Savage CO, Harper L (2007) ANCA-associated vasculitis: nw options beyond steroids and cytotoxic drugs. Expert Opin Invest Drugs 16: 689–703
Sharma BK, Jain S, Suri S, Numano F (1996) Diagnostic criteria for Takayasu arteritis. Int J Cardiol 54 (Supplement): S141–S147
Shigematsu H, Shigematsu K (1999) Factors affecting the long-term outcome of Buerger's disease (thrombangitis obliterans). Int Angiol 18: 58–64
Shimizu T, Ehrlich GE, Inaba G, Hayashi K (1979) Behçet's disease (Behçet's syndrome). Seminars in Arthritis Rheum 8: 223–260
Smith CD, Cyr M (1988) The history of lupus erythematosus. From Hippocratus to Osler. Rheum Dis Clin N Am 14: 1–14
Stegeman CA, Cohen-Tervaert JW, de Jong PE, Kallenberg CG (1996) Trimethoprim-sulfamethoxazole (co-trimoxazole) for the prevention of relapses of Wegener's granulomatosis. Dutch Co-Trimoxazole Wegener Study Group. N Engl J Med 335: 16–20
Takayasu M (1908) A case with unusual changes of the central vessels in the retina. Acta Soc Ophthalmol Jap 12: 554–563
Tamura N, Matsudaira M, Ikeda M et al. (2007) Two cases of refractory Wegener's Granulomatosis successfully treated with rituximab. Int Med 46: 409–414
Uziel Y, Brik R, Padeh S et al. (1998) Juvenile Behçet's disease in Israel. The Pediatric Rheumatology Study Group of Israel. Clin Exp Rheumatol 16: 502–505
Van der Veen MJ, Dinant HJ, van Booma-Frankfort C et al. (1996) Can methotrexate be used as a steroid sparing agent in the treatment of polymyalgia rheumatica and giant cell arteritis ? Ann Rheum Dis 55: 218–223
Watts RA, Lane SE, Bentham G, Scott DGI (2000) Epidemiology of systemic vasculitis (SV) – a 10 year study in the United Kingdom. Arthritis Rheum 43: 414–419
Wegener F (1939) Über eine eigenartige rhinogene Granulomatose mit besonderer Beteiligung des Arteriensystems und der Nieren. Beiträge zur pathologischen Anatomie und allgemeinen Pathologie: 36–68
Wegener F (1936) Über generalisierte, septische Gefäßerkrankungen. Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Pathologie 29: 202–210
Yazìcì H, Pazarlì H, Barnes CG et al. (1990) A controlled trial of azathioprine in Behçet's syndrome. New Engl J Med 332: 281–285
Zeek PM, Smith C, Weeter J (1948) Studies on periarteritis nodosa. III. The differentiation between the vascular lesions of periarteritis nodosa and of hypersensitivity vasculitis. Am J Pathology 24: 889–918
Zizic TM, Classen JN, Stevens MB (1982) Acute abdominal complications of systemic lupus erythematosus and polyarteritis nodosa. Am J Med 73: 525–531

## 33.2 Thrombophlebitis

*D. Zgouras, E. Lindhoff-Last*



### Einleitung

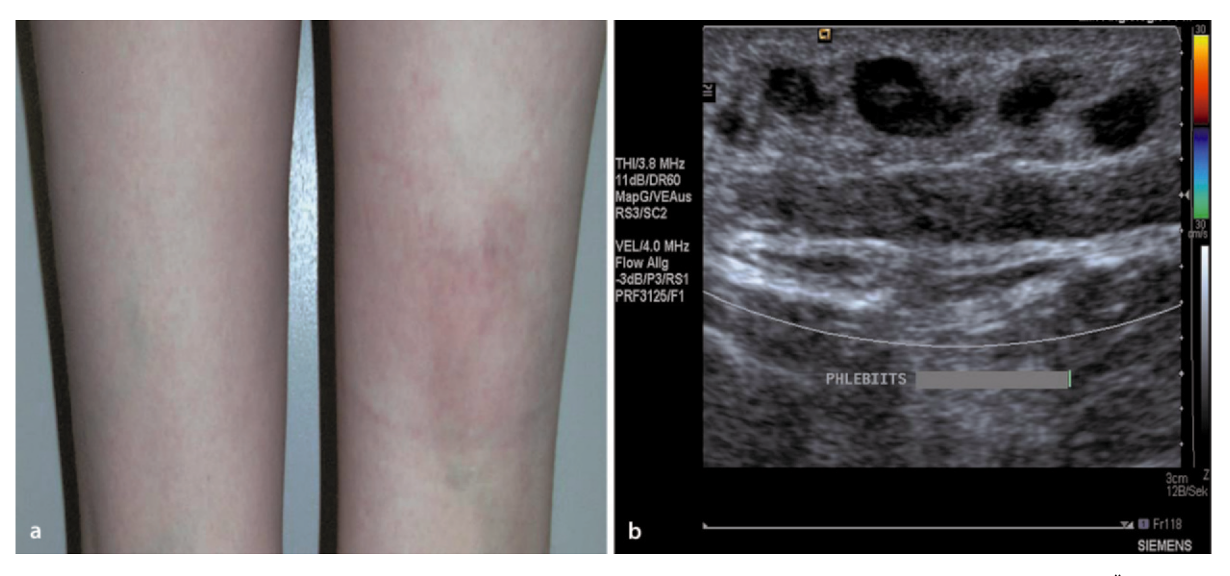
Die Thrombophlebitis ist eine Entzündung der epifaszialen Venen, die häufig mit einem thrombotischen Verschluss einhergeht. Die Thrombophlebitis kann Symptom einer systemischen Erkrankung sein oder durch lokale Faktoren ausgelöst werden. Diagnostisch wegweisend sind das klinische Bild und die duplexsonographische Bildgebung. Im Allgemeinen handelt es sich um ein Krankheitsbild, das unter der Kombinationstherapie mit niedermolekularem Heparin und Kompressionstherapie rasch und komplikationslos abheilt.

### 33.2.1 Definition

Der Begriff der Thrombophlebitis umfasst die Entzündung epifaszialer Venen, einhergehend oder ausgelöst durch einen thrombotischen Verschluss des Venenlumens. Sie befällt in den meisten Fällen varikös veränderte Venen (etwa 90%). Klinisch imponiert eine strangförmige, druckdolente und gerötete Verhärtung, die entlang einer oberflächlichen Vene verläuft. Im Allgemeinen handelt es sich um ein Krankheitsbild, das unter entsprechender ambulanter Therapie rasch und komplikationslos abheilt. Die Thrombophlebitis kann auch begleitend zu einer ernsten Grunderkrankung auftreten. Daran muss insbesondere dann gedacht werden, wenn nicht varikös veränderte Oberflächenvenen betroffen sind. Hier gilt es v. a., maligne Grunderkrankungen auszuschließen.

In der Literatur werden ca. 125.000 Neuerkrankungen im Laufe eines Jahres in den Vereinigten Staaten von Amerika beschrieben (De Weese et al. 1991). Die Inzidenz für Europa oder Deutschland ist nicht bekannt. Risikofaktoren stellen chronische Läsionen der Venenwand in Form einer Varikosis dar sowie entzündliche und systemische Erkrankungen (z. B. Malignome, Thrombangiitis obliterans). Ebenso als prädisponierende Faktoren anzusehen sind Gerinnungsstörungen im Sinne einer thrombophilen Diathese, Nikotinkonsum, höheres Lebensalter (>60 Jahre) sowie eine durchgemachte tiefe Beinvenenthrombose oder Thrombophlebitis.

Die Erkrankung tritt insgesamt häufiger beim weiblichen als beim männlichen Geschlecht auf und zeigt ein höheres Auftreten während der Schwangerschaft sowie in der postpartalen Phase (▣ Abb. 33.1; Kupelian et al. 2007). Im ersten Monat post partum kann die Inzidenz um das




▣ **Abb. 33.1a,b.** Postpartale Thrombophlebitis. **a** Dorsalseite des rechten Beins oberhalb des Kniegelenks mit begleitender Rötung, Überwärmung und Druckschmerz, **b** Duplexsonographie des gleichen Befunds mit sichtbaren Thromben in den superfaszialen Venen, dargestellt mit einer 13-mHz-Ultraschallsonde

48-fache erhöht sein (Samlaska u. James 1990). Zusätzlich wird das Risiko einer Thrombophlebitis durch orale Kontrazeptiva oder eine Hormonersatztherapie erhöht.

Wie bereits erwähnt, hat die Varikosis einen hohen Stellenwert in der Pathogenese der Erkrankung.

**! Bei 22% der untersuchten Patienten mit dem Bild einer Varikosis konnte begleitend eine Thrombophlebitis beobachtet werden (Husni u. Williams 1982).**

Ein Großteil der Thrombophlebitiden ist iatrogen durch eine lokale Schädigung der Venenwand verursacht. Dies kann durch infizierte Katheter und Verweilkanülen sowie intravenöse Injektionen und Infusionen hervorgerufen werden. Unter Umständen kann diese Form der Phlebitis Ausgangspunkt einer Sepsis sein, v. a. nach nicht ausreichender Desinfektion der Haut. Häufigster Erreger ist der Hautkeim Staphylococcus epidermidis.

Sonderformen der Thrombophlebitis stellen die Thrombophlebitis saltans sive migrans, die Mondor-Phlebitis und das Lemierre-Syndrom dar. Da besonders häufig eine Koinzidenz zu malignen Erkrankungen besteht, muss diese wichtige Tatsache in die diagnostischen Überlegungen einbezogen werden.

Eine epifasziale Thrombophlebitis kann durch Aszension in das tiefe Venensystem zu einer tiefen Venenthrombose führen. Einzelne Fallbeschreibungen berichten sogar über eine Koinzidenz mit einer Lungenembolie.





**Abb. 33.2.** Beginnende Phlebitis mit strangförmiger Rötung am linken Arm, verursacht durch eine intravenöse Kanüle und Infusion

## 33.2.2 Pathogenese

Ähnlich wie bei der tiefen Beinvenenthrombose steht die Virchow-Trias auch bei der epifaszialen Phlebitis im Mittelpunkt der Ätiologie. Sie umfasst 3 wichtige Aspekte, die zur Entstehung einer Thrombophlebitis beitragen. Hierzu werden gezählt:

- Alterationen der Gefäßwand, bedingt durch eine Entzündung, Traumata (Verweilkanülen, Verweilkatheter) oder degenerative Veränderungen,
- Veränderungen des Blutstroms im Sinne einer Verminderung der Strömungsgeschwindigkeit oder einer lokalen Stase,
- Veränderung der Blutzusammensetzung mit erhöhter Gerinnungsbereitschaft im Sinne einer Hyperkoagulabilität.

**Alterationen der Gefäßwand.** Hier sind v. a. Thrombophlebitiden in Folge von venösen Verweilkanülen zu nennen. Neben der direkten Reizung der Venenwand durch das Material der Kanüle kommt auch den infundierten Substanzen ursächlich eine große Bedeutung zu. Hier sind v. a. hyperosmolare Lösungen (Kaliuminfusionen, parenterale Ernährung), bestimmte Antibiotika (Vancomycin, Oxacillin) sowie intravenös verabreichtes Diazepam und Alprostadil (Prostavasin®) zu nennen (Abb. 33.2).

Darüber hinaus zählen bakterielle Infektionen, in den meisten Fällen verursacht durch die lokale Hautflora, zu den Auslösern von Phlebitiden. Das Keimspektrum umfasst folgende Keime (Maki u. Ringer 1991):

- Staphylococcus aureus,
- Staphylococcus epidermidis,
- Enterobacteriacae,
- Pseudomonas aeruginosa,
- Enterococcus-Spezies,
- Anaerobier.

Insbesondere die Verweildauer der intravenösen Katheter oder Kanülen korreliert mit dem Risiko einer Phlebitis.

**Cave**

Bei dieser Form der Phlebitis ist vereinzelt die Gefahr einer septischen Streuung zu beachten. Schüttelfrost und febrile Temperaturen können als Zeichen der beginnenden Sepsis auftreten und bis zu einer lebensbedrohlichen Situation führen.

**Lokale Stase.** Ursache einer Stase ist die Immobilisation, insbesondere postoperativ und häufig im Zusammenhang mit Gipsverbänden. Eine Störung des Blutflusses ist auch in varikös erweiterten Oberflächenvenen zu beobachten.

**Hyperkoagulabilität.** Eine erhöhte Gerinnungsneigung des Blutes, z. B. bedingt durch eine angeborene Thrombophilie, ist bisher nur in kleinen Populationen systematisch untersucht worden. Dabei konnte bei ca. 40% der Patienten mit oberflächlicher Thrombophlebitis eine Thrombophilie nachgewiesen werden (Hanson et al. 1998). Für alle klassischen thrombophilen Risikofaktoren (Antithrombin, Protein C, Protein S, FV Leiden, Antiphospholipidantikörper) konnte eine Assoziation nachgewiesen werden, die aufgrund der geringen Kohortengrößen kritisch zu bewerten sind. In einem untersuchten Kollektiv von 45 Patienten mit 2 oder mehr epifaszialen Phlebitiden fand man eine signifikant höhere Prävalenz für Antikardiolipinantikörper als im Vergleichskollektiv (33% vs. 7%). Die Faktor-V-Leiden-Mutation kann ebenfalls mit der Thrombophlebitis assoziiert sein. Dagegen scheint die Prothrombinmutation keine Bedeutung zu haben, wobei angemerkt sei, dass die Studienlage sehr gering ist.

Neben den genannten Ursachen ist v. a. beim Auftreten einer Thrombophlebitis in einer nicht varikös veränderten Oberflächenvene an ein paraneoplastisches Syndrom zu denken. Das Trousseau-Syndrom (Trousseau 1862) geht mit rezidivierenden und migrierenden Thrombophlebitiden einher und kommt gehäuft bei Adenokarzinomen vor, insbesondere bei Pankreas- und Magenkarzinomen. Der Erstbeschreiber Armand Trousseau (1801–1867) hat die Assoziation von Thrombosen und Malignomen erkannt (Trousseau 1862). Tragischerweise entdeckte er bei sich selbst eine Phlebitis am linken Arm. Ursache hierfür war ein Magenkarzinom, an dem er 8 Monate darauf verstarb. Eine maligne Grunderkrankung als Ursache der Thrombophlebitis ist daher besonders bei rezidivierenden Thrombophlebitiden in nicht varikös erweiterten Venen auszuschließen.

Pathogenetisch werden durch den Tumor sezernierte Gerinnungsfaktoren oder eine Aktivierung von Gerinnungsfaktoren durch den Tumor als Ursache vermutet (Callender et al. 1992; Zacharski et al. 1983). Eine wichtige Bedeutung wird dabei dem Tissue Factor, sowie dem »cancer procoagulant« beigemessen. Das Zelladhäsionsmolekül P-Selektin, welches auf stimulierten Endothelzellen sowie aktivierten Thrombozyten exprimiert wird, scheint ebenso einen thrombogenen Faktor bei Entzündungen und Tumorerkrankungen darzustellen (Geng et al. 2004).

### Thrombophlebitis migrans sive saltans

Die Thrombophlebitis migrans sive saltans ist als eine Entzündung oberflächlicher Venen definiert, welche eine wechselnde Lokalisation einnimmt und einen »wandernden« (Migransform) oder »springenden« (Saltansform) Charakter besitzt. Die befallenen Venen sind in der Regel nicht varikös erweitert. Diese Form stellt somit eine Sonderform der Thrombophlebitis dar.

Es wird zwischen einer primären und einer sekundären Form unterschieden. Die Ursache der primären Form ist nicht bekannt. Bei der sekundären Form kommen verschiedene Ursachen infrage. Die Erkrankung kann im Rahmen einer Vaskulitis (Thrombangiitis obliterans, Wegener-Granulomatose, Panarteriitis nodosa), einer Gerinnungsstörung oder eines Malignoms vorkommen. Weiterhin kommen differenzialdiagnostisch die Behçet-Krankheit, Lupus erythematodes, Polymyalgia rheumatica sowie eine Rickettsiose in Betracht.

### Mondor-Phlebitis

Die Mondor-Phlebitis, nach dem Erstbeschreiber Henry Mondor (1932) benannt, ist eine seltene strangförmige, oberflächliche Thrombophlebitis der Vv. thoracoepigastricae an der lateralen Thorax- und Bauchwand sowie der V. epigastrica superficialis. Gelegentlich sind die Armvenen und die V. dorsalis penis befallen. Ein gehäuftes Auftreten ist im 2. bis 5. Lebensjahrzehnt beobachtet worden. Die Häufigkeit ist beim weiblichen Geschlecht 3-fach höher. Die Ätiologie der Erkrankung ist nicht sicher geklärt.

Einzelne Fallbeschreibungen zeigen eine Assoziation mit Karzinomen, insbesondere mit dem Mammakarzinom. Weiterhin besteht ein Zusammenhang mit einer Thrombophilie (Antiphospholipidantikörper, Protein-C-Mangel), einer Hepatitis C sowie einer traumatischen Einwirkung.

### Lemierre-Syndrom

Dieses Krankheitsbild wurde 1900 erstmalig beschrieben. Infolge einer Halsinfektion kommt es im Rahmen einer lokalen Weichteilinfektion zu einer septischen Thrombophlebitis der V. jugularis externa. Eine septische Streuung kann resultieren, welche weitere Organe (Lunge, Milz, Nieren) betreffen und zu einer Septikämie führen kann. In den meisten Fällen handelt es sich um junge Patienten ohne wesentliche Vorerkrankungen. Verursacht wird die Lokalinfektion für gewöhnlich durch den gramnegativen Erreger Fusobacterium necrophorum.

> **!** **Neben einer raschen operativen Therapie ist eine gezielte Antibiose entscheidend. Die Trias Peritonsillar- bzw. Halsabszess, Jugularvenenthrombose und septische Lungenmetastase sollte differenzialdiagnostisch an ein Lemierre-Syndrom denken lassen.**

### 33.2.3 Klinik

Bei der Thrombophlebitis handelt es sich um ein akutes Geschehen, bei dem in den meisten Fällen allein die eindrucksvolle klinische Symptomatik und der Untersuchungsbefund ausreichend für die Diagnosestellung sind. Initial imponiert eine plötzlich auftretende Entzündung im Bereich einer oberflächlichen Vene. Im Vordergrund stehen dabei die typischen Entzündungszeichen. Entlang eines Venenstrangs findet sich eine Rötung der Haut mit Überwärmung (Abb. 33.3); begleitend tritt eine leichte lokale Schwellung mit Druckschmerz auf. Eine Verhärtung des betroffenen Gefäßes ist am ehesten im Zusammenhang mit einer Thrombusbildung in der entzündeten epifaszialen Vene zu erkennen.

Die betroffene Extremität ist für gewöhnlich nicht generalisiert geschwollen, da keine Abflussstörung vorliegt. Eine generalisierte Schwellung ist ein Symptom der Phlebothrombose, bei deren Vorliegen im Rahmen einer Thrombophlebitis dringend eine Ausbreitung in die tiefen Venen ausgeschlossen werden muss.

### 33.2.4 Diagnostik

33

Die Diagnose einer Thrombophlebitis kann anhand des klinischen Erscheinungsbilds relativ sicher gestellt werden. Der Lokalbefund ist durch eine Rötung, Überwärmung sowie Druckdolenz charakterisiert, welche in den meisten Fällen an einer varikös veränderten Vene zu finden ist.



**Abb. 33.3.** Thrombophlebitis mit den typischen Zeichen Rubor, Calor und Tumor. Als Risikofaktor ist v. a. die ausgeprägte Varikosis (*Pfeil*) gut erkennbar

**! Neben der Inspektion und Untersuchung des Areals ist die hochauflösende farbkodierte Duplexsonographie (Kompressionssonographie) das Verfahren der ersten Wahl zur Bestimmung der Ausbreitung einer Thrombophlebitis (Talbot 1988).**

Mit dieser Methode kann die genaue Ausdehnung der Thrombophlebitis dokumentiert und darüber hinaus eine Ausbreitung in das tiefe Venensystem erkannt werden, die dann auch mit einem erhöhten Lungenembolierisiko einhergeht. Besonders wichtig ist dabei die Beurteilung der Crosse und der Ausschluss eines von der V. saphena magna in die V. femoralis superficialis ragenden Thrombuszapfens sowie ein Thrombusprogress von der V. saphena parva ausgehend in die Mündungsstelle der V. poplitea.

Eine duplexsonographische Verlaufskontrolle ist zum sicheren Ausschluss einer Progression bei persistierenden Beschwerden und zur Beurteilung des Therapieerfolgs bei Thrombophlebitiden im Mündungsbereich der tiefen Venen nach etwa 7–10 Tagen zu empfehlen. Dabei variiert die Qualität der Duplexsonographie stark mit der Erfahrung des Untersuchers und mit der Auflösung des Ultraschallgeräts.

Laborchemisch kann bei der Thrombophlebitis eine erhöhte Blutsenkung (BSG) sowie ein Anstieg des C-reaktiven Proteins (CRP) im Rahmen der Entzündungsreaktion imponieren. Diese Marker zeichnen sich jedoch durch eine geringe Spezifität aus. Die Bedeutung der D-Dimer-Bestimmung bei der Verdachtsdiagnose einer Thrombophlebitis ist noch unklar, kann aber möglicherweise einen wichtigen Hinweis für eine Mitbeteiligung des tiefen Venensystems geben. Bei Patienten mit rezidivierenden Thrombophlebitiden sollte eine Thrombophilie ausgeschlossen werden.

Grundsätzlich sollte bei wiederholt auftretenden epifaszialen Phlebitiden in nicht varikös veränderten Gefäßen eine umfangreiche Tumorabklärung erfolgen. Diese sollte eine Röntgenuntersuchung des Thorax, einen Ultraschall des Abdomens sowie ein urologisches bzw. gynäkologisches Tumorscreening beinhalten. Je nach Alter, Vorgeschichte und familiärer Belastung (z. B. Kolonkarzinom in der Familienanamnese) muss auch eine endoskopische Abklärung in Betracht gezogen werden. Als Auslöser einer Thrombophlebitis migrans sive saltans sollte eine Vaskulitis ausgeschlossen werden. Bei rezidivierender oder wechselnder Thrombophlebitis kann eine histopathologische Untersuchung hilfreich sein. Die Biopsie eines befallenen Areals sollte jedoch nur in besonderen Einzelfällen erfolgen. Sie gilt nicht als diagnostischer Standard.

Die Mondor-Phlebitis ist durch die typische Lokalisation (laterale Thoraxwand) und die klinische Symptomatik einer Phlebitis charakterisiert. Die klinische Verdachtsdiagnose kann durch die hochauflösende Duplexsonographie

bestätigt werden. Differenzialdiagnostisch sollten eine Vaskulitis bzw. eine Autoimmunerkrankung, v. a. ein Antiphospholipidsyndrom abgeklärt werden. Wesentlich ist die Abklärung eines Mammakarzinoms bei der bekannt hohen Koinzidenz.

Obwohl allein anhand der eindrucksvollen klinischen Symptomatik eine Thrombophlebitis recht sicher diagnostiziert werden kann, müssen auch Differenzialdiagnosen, die zu einem ähnlichen Erscheinungsbild führen, in Betracht gezogen werden. Eine erythematöse Hautveränderung imponiert unter anderem bei der Lyme-Borreliose (Erythema migrans), beim Erythema nodosum oder auch beim Erysipel. Diese Krankheitsbilder unterscheiden sich von der Thrombophlebitis zum einen durch die Anamnese, zum anderen durch das Erscheinungsbild der Hautveränderung an sich.

Das Sweet-Syndrom stellt ebenfalls eine mögliche Differenzialdiagnose dar. Hierbei handelt es sich um eine erythematöse, schmerzhafte Hautveränderung, die bei hämatologischen Krankheitsbildern wie der akuten myeloischen Leukämie (AML) oder dem myelodysplastischen Syndrom (MDS) begleitend auftritt. Histologisch handelt es sich um entzündliche Infiltrate in der Lamina propria der kleinen Gefäße der Subkutis. Weitere Differenzialdiagnosen können die kutane Polyarteriitis nodosa (PAN), das Kaposi-Sarkom sowie eine Lymphangitis sein.

## 33.2.5 Therapie

Für die Behandlung der Thrombophlebitis existiert keine standardisierte Therapieempfehlung. Die Therapie setzt sich aus 2 wesentlichen Bestandteilen zusammen:

- allgemeinen Behandlungsmaßnahmen
- Antikoagulation mit niedermolekularen Heparinen.

Die Ruhigstellung der Extremität ist obsolet, stattdessen trägt die Mobilisierung mit normaler bis leichter Belastung zur besseren Ausheilung des Krankheitsbilds bei und vermindert eine weitere Thrombusapposition. Bettruhe ist nur bei sehr starken Schmerzen, welche eine Bewegung nicht zulassen, indiziert.

Der Nutzen von lokalen Antikoagulanssalben ist umstritten und die Empfehlungen in der Literatur kontrovers. In einer prospektiven Studie konnte kein Benefit für eine lokale Salbenbehandlung im Vergleich zu Placebo nachgewiesen werden (Bergqvist et al. 1990). Verschiendene Zusammensetzungen von Lokaltherapeutika (Heparinoid® Crème, Piroxicam Gel) wurden hierbei untersucht. Weder die Ausdehnung noch die Schmerzintensität des Lokalbefunds konnten durch die Therapie signifikant beeinflusst werden.

**! Nichtsteroidale Antiphlogistika sind hingegen sowohl in lokaler als auch in systemischer Anwendung nachweislich wirksam und können grundsätzlich eingesetzt werden.**

Sie tragen zu einer Reduktion der Schmerzen bei und inhibieren darüber hinaus die lokale Entzündungsreaktion. Die Konsensusempfehlungen des American College of Chest Physicians (ACCP) beinhalten entweder eine orale Dosis von NSAR oder die lokale Anwendung (Buller et al. 2004).

Die Kompressionstherapie stellt eine Prophylaxe gegen die Ausbreitung der Phlebitis dar und spielt insbesondere bei der Thrombophlebitis in Begleitung mit einer Varikosis eine wichtige Rolle. Wenn die Schmerzen es zulassen, kann eine Kompression durch entsprechende Kurzzugbinden oder durch Kompressionsstrümpfe vorgenommen werden. Sie werden v. a. bei ausgeprägter Varikosis als Rezidivprophylaxe empfohlen und sollten in diesem Fall langfristig getragen werden.

Die Antikoagulationstherapie mit subkutan applizierten Heparinen ist grundsätzlich zu empfehlen. Sie wies in bisherigen Studien einen therapeutischen Vorteil gegenüber einer alleinigen Kompressionstherapie auf. Die Datenlage bezüglich der zu wählenden Dosierung ist jedoch unklar. In der Empfehlung der ACCP wird die 4-wöchige Applikation eines niedermolekularen Heparins in »mittlerer« Dosierung empfohlen, genaue Dosierungsangaben werden nicht gemacht.

Die Studienlage zu dieser Thematik ist sehr gering. Scheinbar ist eine volltherapeutische Antikoagulation vorteilhafter als eine prophylaktische Antikoagulation bezogen auf die Ausbreitung einer Thrombophlebitis. In der STENOX-Studie (»superficial thrombophlebitis treated by enoxaparin«) wurde Enoxaparin in prophylaktischer (40 mg) oder therapeutischer (1,5 mg/kgKG) Dosierung mit Placebo verglichen. Dabei zeigte die Thrombophlebitis bei den placebobehandelten Probanden 10 Tage nach der Diagnosestellung signifikant häufiger eine proximale Ausdehnung. Die Rate an neu aufgetretenen tiefen Beinvenenthrombosen blieb jedoch in allen 3 Behandlungsarmen unverändert (Jeanneret et al. 2007). Allerdings fielen in einem 6-Monate-Follow-up in der Gruppe, die mit niedrig dosiertem niedermolekularem Heparin therapiert wurde, signifikant häufiger thromboembolische Ereignisse und Rezidive auf als in der Gruppe mit volltherapeutischer Dosierung des niedermolekularen Heparins.

Solange keine ausreichenden Daten vorliegen, sollte die therapeutische Entscheidung anhand des Lokalbefunds und seiner duplexsonographischen Ausbreitung festgelegt werden. Dabei sollten auch die Risikofaktoren in Betracht gezogen werden (Varikosis, Immobilität, Malignom). Zudem sollte bei Beschwerdeprogredienz eine engmaschige duplexsonographische Kontrolle des Befundes nach ca. 7–10 Tagen erfolgen.

Trotz der unzureichenden Studienlage empfehlen wir eine medikamentöse Gerinnungshemmung unter bestimmten klinischen Konditionen:

- Thrombophlebitiden der V. saphena magna, die bis an die Crosse reichen und/oder Perforansvenen involvieren, sowie Thrombosen der V. saphena parva, die bis an die Mündungsstelle in das tiefe Venensystem reichen, sollten über einen Zeitraum von 4 Wochen in volltherapeutischer Dosierung mit niedermolekularen Heparinen und konsequenter Kompressionstherapie behandelt werden. Bei Patienten mit aktiver maligner Grunderkrankung ist ein längerer Behandlungszeitraum sinnvoll.
- Langstreckige Thrombophlebitiden der V. saphena magna oder V. saphena parva sollten einer 4-wöchigen halbtherapeutischen Antikoagulation mit niedermolekularem Heparin unterzogen werden, unterstützt durch eine Kommpressionstherapie.
- Thrombophlebitiden, die sich nur lokal und kurzstreckig ausdehnen, nur die Seitenäste befallen und die Perforansvenen nicht einbeziehen, sollten eher mit einer Hochrisikoprophylaxe eines niedermolekularen Heparins über 2–4 Wochen behandelt werden. Falls eine Beschwerdezunahme auftritt, ist eine Duplexverlaufskontrolle erforderlich. Entsprechend des Befundes muss dann über eine Erhöhung der Dosis nachgedacht werden.

33

**! Der vollständige Verzicht auf eine Antikoagulation bei der Behandlung der Thrombophlebitis erscheint uns riskant, da anhand von Studiendaten die alleinige Kompression wesentlich häufiger mit einer proximalen Ausdehnung der Thrombophlebitis sowie mit einer begleitenden tiefen Beinvenenthrombose einhergeht (Jeanneret et al. 2007; Belcaro et al. 1999).**

Im Einzelfall sollte auch die akute chirurgische Therapie mittels einer Crossektomie bedacht werden. Die Crossektomie kann v. a. bei einem proximalen Befall der V. saphena magna eine therapeutische Option sein, wenn die Gefahr des Fortschreitens der Thrombophlebitis in die V. femoralis communis vorliegt.

Bei rezidivierenden Thrombophlebitiden auf dem Boden einer ausgeprägten Varikosis sollte in der Akutphase eine Antikoagulation durchgeführt werden, im Intervall jedoch eine chirurgische Therapie mittels Venenstripping als therapeutische Option in Betracht gezogen werden.

Die systemische antibiotische Therapie hat eine bedeutende Rolle bei septischen Thrombophlebitiden. Sollte ein Abszess abzugrenzen sein, muss zusätzlich eine chirurgische Abszessspaltung erfolgen.

## Literatur


Belcaro G, Nicolaides A, Errichi B, Cesarone M, De Sanctis M, Incandela L (1999) Superficial thrombophlebitis of tue legs. A randomised, controlled, follow-up study. Angiology 50: 523–9

Bergqvist D, Brunkwall J, Jensen N, Persson N (1990) Treatment of superficial thrombophlebitis. A comparative trial between placebo, hirudoid cream and piroxicam gel. Ann Chir Gynaecol 79: 92–6

Buller HR, Agnelli G, Hull RD, Hyers TM, Prins MH, Raskob GE (2004) Antithrombotic therapy for venous thromboembolic disease. The Seventh ACCP Conference on antithrombotic and thrombolytic therapy. Chest 126: 401S–28S

Callander NS, Varki N, Rao LV (1992) Immunohistochemical identification of tissue factor in solid tumors. Cancer 70: 1194–1201

DeWeese MS (1991) Nonoperative treatment of acute superficial thrombophlebitis and deep femoral venous thrombosis. In: Ernst CB, Stanley JC (eds) Current therapy in vascular surgery, 2nd ed. Philadelphia: Decker, p 952

Geng JG, Chen M, Chou KC (2004) P-selectin Cell Adhesion Molecule in Inflammation, Thrombosis, Cancer Growth and Metastasis. Curr Med Chem 11(16): 2153–2160(8)

Hanson J, Ascher E, DePippo P, Lorensen W, Scheinman M, Yorkovich W (1998) Saphenous vein thrombophlebitis (SVT). A deceptively benign disease. J Vasc Surg 27: 677–80

Husni E, Williams W (1982) Superficial thrombophlebitis of lower limbs. Surgery 9: 70–4

Jeanneret C, Baldi T, Jenelten R (2006) Die oberflächliche Thrombophlebitis: ein Überblick. Schweiz Med Forum 6: 190–95

Kupelian AS, Huda MS (2007) Pregnancy, thrombophlebitis and thromboembolism: what every obstetrician should know. Arch Gynecol Obstet 275(3): 215–7

Maki DG, Ringer M (1991) Risk factors for infusion-related phlebitis with small peripheral venous catheters. A randomized controlled trial. Ann Intern Med 114: 845

Samlaska CP, James WD (1990) Superficial thrombophlebitis. II: Secondary hypercoagulable states. J Am Acad Dermatol 23: 1

STENOX (superficial thrombophlebitis treated by enoxaparin) Study Group (2003) A Pilot randomised double-blind comparison of a low-molecular-weight heparin, a nonsteroidal anti-inflammatory agent, and placebo in the treatment of superficial vein thrombosis. Arch Intern Med 163: 1657–63

Talbot S (1988) B-mode evaluation of peripheral veins. Semin Ultrasound CT MR 9: 295–319

Trousseau A (1868) Lectures on clinical medicine, delivered at the Hotel-Dieu, Paris. P.V. Bazire, editor and translator. London: The New Sydenham Society Publications; 55: 281–332

Zacharski LR, Schned AR, Sorenson GD (1983) Occurrence of fibrin and tissue factor antigen in human small cell carcinoma of the lung. Cancer Res 43: 3963–3968

# 37 Purpura fulminans und andere komplexe Gerinnungsstörungen bei Kindern

*A. Veldman*



## Einleitung

Komplexe Gerinnungsstörungen in der Pädiatrie begegnen dem Kliniker in der Regel im Kontext der Behandlung von Patienten auf pädiatrischen oder neonatologischen Intensivstationen. Bei diesen Patienten manifestiert sich die Gerinnungsstörung meist im Rahmen einer Multisystemerkrankung. Die komplexe Interaktion verschiedener Subsysteme wie Immunsystem, Gerinnungssystem und Zirkulation muss sowohl bei der Diagnostik als auch bei der Therapie dieser Krankheitsbilder berücksichtigt werden. Diese Herausforderung erfolgreich zu bewältigen, setzt einen multidisziplinären Ansatz zwischen Intensivmedizinern, Neonatologen, Kardiologen und Hämostaseologen voraus.

## 37.1 Purpura fulminans

### 37.1.1 Definition und Pathogenese

Der Bergriff Purpura fulminans (PF) beschreibt eine akute Thrombosierung der Mikrozirkulation in verschiedenen Organsystemen mit nachfolgender Hypoxie und Nekrose. Die Manifestation der Purpura fulminans wird an der Haut und den Schleimhäuten beobachtet, dies darf jedoch nicht darüber hinwegtäuschen, dass auch andere Organsysteme betroffen sind. An der Haut zeigen sich landkartenartige, livide bis nekrotische Läsionen, welche nicht wegdrückbar sind (Abb. 37.1). Sowohl Ausmaß als auch die Anzahl der Läsionen sind rasch progredient. Purpura-fulminans-Läsionen weisen am Übergang zur gesunden Haut einen schmalen inflammatorischen Randsaum auf.

Die Purpura fulminans ist das klinische Bild des akuten Protein-C-Mangels. Eine Purpura fulminans tritt in der Regel im Kontext akuter septischer Krankheitsbilder, hier insbesondere der Meningokokkensepsis auf. Sie kann jedoch auch bei septischen Erkrankungen anderer Genese wie Pneumokokken oder Enterobakterinfektionen beobachtet werden. Auch der homozygote und doppelt heterozygote kongenitale Protein-C-Mangel manifestiert sich mit einer Purpura fulminans. Ebenso zeigen Patienten mit einem klinisch stummen einfach heterozygoten Protein-C-Mangel unter schneller Therapieaufsättigung mit Vitamin-K-Antagonisten erworbene Protein-C-Mangelzustände, die unter Umständen zum klinischen Phänotyp einer Purpura fulminans führen können.

Die Purpura fulminans manifestiert sich als eine der akutesten und prognostisch ungünstigsten Gerinnungsstörungen überwiegend im Kindes- und Säuglingsalter, wird aber auch bei erwachsenen Patienten beobachtet.

### 37.1.2 Diagnostik

Die Purpura fulminans ist eine klinische Blickdiagnose. Der typische Phänotyp der Purpura fulminans ist gegen Gerinnungsstörungen anderer Genese mit Petechien, Suggilationen und Hämatomen abzugrenzen. Ein klinisch ähnliches Bild zeigt die seltene kutane Hämangiomatose, die v. a. bei Neugeborenen mit einer Purpura fulminans verwechselt werden kann.

Generell können die rasch progedienten, ubiquitär auftretenden, livide bis nekrotischen landkartenartigen Effloreszenzen bei einem schwer kranken Patienten bei einer gründlichen Untersuchung kaum übersehen oder fehlinterpretiert werden. Labordiagnostik darf hier in keinem Fall die Initiierung einer Therapie verzögern.

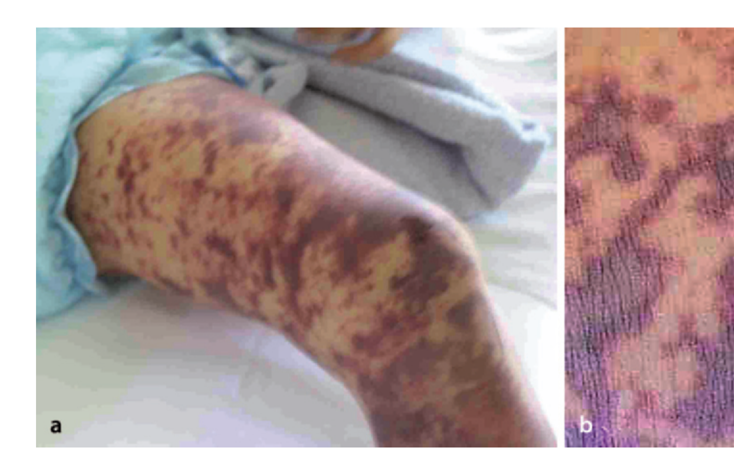


**Abb. 37.1a,b.** Typische landkartenartige Läsionen einer Purpura fulminans

Im Plasma sind die Entzündungparameter wie IL-6 oder CRP erhöht. Im Blutbild zeigt sich eine ausgeprägte Thrombozytopenie, die Leukozytose als Zeichen der Inflammation ist häufig, aber nicht immer vorhanden. In der Gerinnungsanalytik zeigen sich die typischen Parameter einer dissiminierten intravasalen Gerinnung (DIC) mit einem positiven DIC-Score (▶ Kap. 34.3). Die Globaltests TPZ (Thromboplastinzeit) und APTT (aktivierte partielle Thromboplastinzeit) sind pathologisch verändert, die D-Dimere positiv. Das Fbrinogen ist erniedrigt oder normal, wobei letzteres auf einen Verbrauch hinweist, da das Fibrinogen als Akutphaseparameter bei Entzündungen ohne Verbrauchsituation immer deutlich erhöht ist.

Die Inhibitorproteine wie Antithrombin und Protein C und S sind bei Patienten mit Purpura fulminans massiv erniedrigt, hierbei zeigt sich ein stärkerer Verlust der Protein-C-Aktivität im Vergleich zur Antithrombinaktivität.

Die rasch progrediente Thrombosierung der Mikrozirkulation mit Verbrauch von Thrombozyten resultiert in einer ausgeprägten Thrombozytopenie. In Kombination mit dem Verbrauch von Gerinnungsfaktoren und eingeschränkter Lebersyntheseleistung (septisches Leberversagen) kann es zu ausgeprägten Hämorrhagien kommen. Blutungen aus Einstichstellen, hier v. a. von arteriellen Gefäßzugängen, sind häufig.

**! Letztlich kommt es aufgrund des thrombotischen Verschlusses der Mikrozirkulation zur Hypoxie im Kapillarstromgebiet mit begleitender Laktatazidose und konsekutivem Multiorganversagen, welches klinisch als eine Kombination aus Katecholamin-resistenter Hypotonie, akutem Nierenversagen, ARDS (akute respiratorische Insuffizienz, engl. »adult respiratory distress syndrome«) und septischem Leberversagen imponiert.**

### 37.1.3 Therapie

Wie bei vielen komplexen Gerinnungsstörungen steht auch bei der Purpura fulminans die Therapie der Grunderkrankung im Vordergrund. Bei Purpura fulminans im Kontext von septischen Erkankungen sei in diesem Zusammenhang auf die regelmäßig aktualisierten Richtlinien der Surviving Sepsis Campaign [1] und deren pädiatrischen Amendments [2] hingewiesen. Eine deutsche Übersetzung ist unter anderem unter www.sepdic.eu abrufbar.

Ziele der Therapie sind die Aufrechterhaltung des Flows in der Mikrozirkulation sowie, wenn möglich, eine Rekanalisierung von obstruierten Stromgebieten. Neben den hämostaseologisch wirksamen Therapien sind eine suffiziente und effektive Makrozirkulation unabdingbare Voraussetzungen für einen Therapieerfolg.

Eine bei septischen Patienten in der Regel eingeschränkte Myokardfunktion macht häufig den Einsatz von Inotropika notwendig. Hierbei ist bei Kindern die Unterscheidung von »warm shock« und »cold shock« notwendig. Bei Patienten mit »warm shock«, d.h. niedrigem peripherem Widerstand und hohen Herzzeitvolumina, kann der Einsatz von Vasopressoren wie Noradrenalin (0,1 µg/kgKG/min) und Vasopressin (0,0001–0,0003 IU/kgKG/min) sinnvoll sein. Bei dem im Kindesalter häufigen »cold shock« mit niedrigen Herzzeitvolumina und hohem peripheren Widerstand ist hingegen eine Therapie mit Inodilatoren, z. B. mit Milrinone (0,75–1 µg/kgKG/min) oder Levosimendan (0,2 µg/kgKG/min), indiziert.

Die bei den sepsisassoziierten Koagulopathien vorliegenden generalisierten Endothelverletzungen verursachen enorme Flüssigkeitsverschiebungen zwischen intravasalen und extravasalen Kompartimenten. Das Vorliegen eines Capilary-Leakage-Syndromes erfordert massive Volumenersatzmengen, die in Bolusgaben von 10–20 ml/kgKG bis zu Gesamtmengen von >60 ml/kgKG weitergeführt werden sollten. Zielparameter einer suffizienten Makrozirkulation sollte eine Differenz von arterieller zu zentralvenöser Sauerstoffsättigung von <30% sein (◘ Abb. 37.2 [30]).

#### Hämostaseologisch wirksame Therapien

Die Therapie der Verbrauchskoagulopathie mit »fresh frozen plasma« (FFP) ist eine der wenigen etablierten Indikationen für diese Plasmapräparate. Die in der DIC verbrauchten Gerinnungsfaktoren und Inhibitoren werden durch FFP balanciert ersetzt, sodass die Gabe von FFP weder eine Blutungsneigung induziert noch eine prokoagulatorische Wirkung hat. Die geringe Konzentation der Faktorproteine macht jedoch die Gabe von Volumen bis zu 40 ml/kgKG notwendig, um eine effektive Faktorsubstitution zu erzielen.

**Cave**

Die hohen Volumina können bei niereninsuffizienten Patienten erhebliche Volumenüberlastungen verursachen. Das Risiko einer transfusionsinduzierten Lungenschädigung muss ebenfalls in Betracht gezogen werden.

Eine Antikoagulation mit Heparin ist in Anbetracht der prothrombotischen Hämostasestörung indiziert, hier sollte aufgrund der Blutungsgefahr bei exzessivem Thrombozytenverbrauch eine niedrige Dosierung mit einem vollständig antagonisierbaren, unfraktionierten Heparin gewählt werden.

Die Gabe von Antithrombinkonzentraten wirkt bei Patienten mit sepsisassoziierten Koagulopathien sowohl antikoagulatorisch als auch antiinflammatorisch. Eine große,

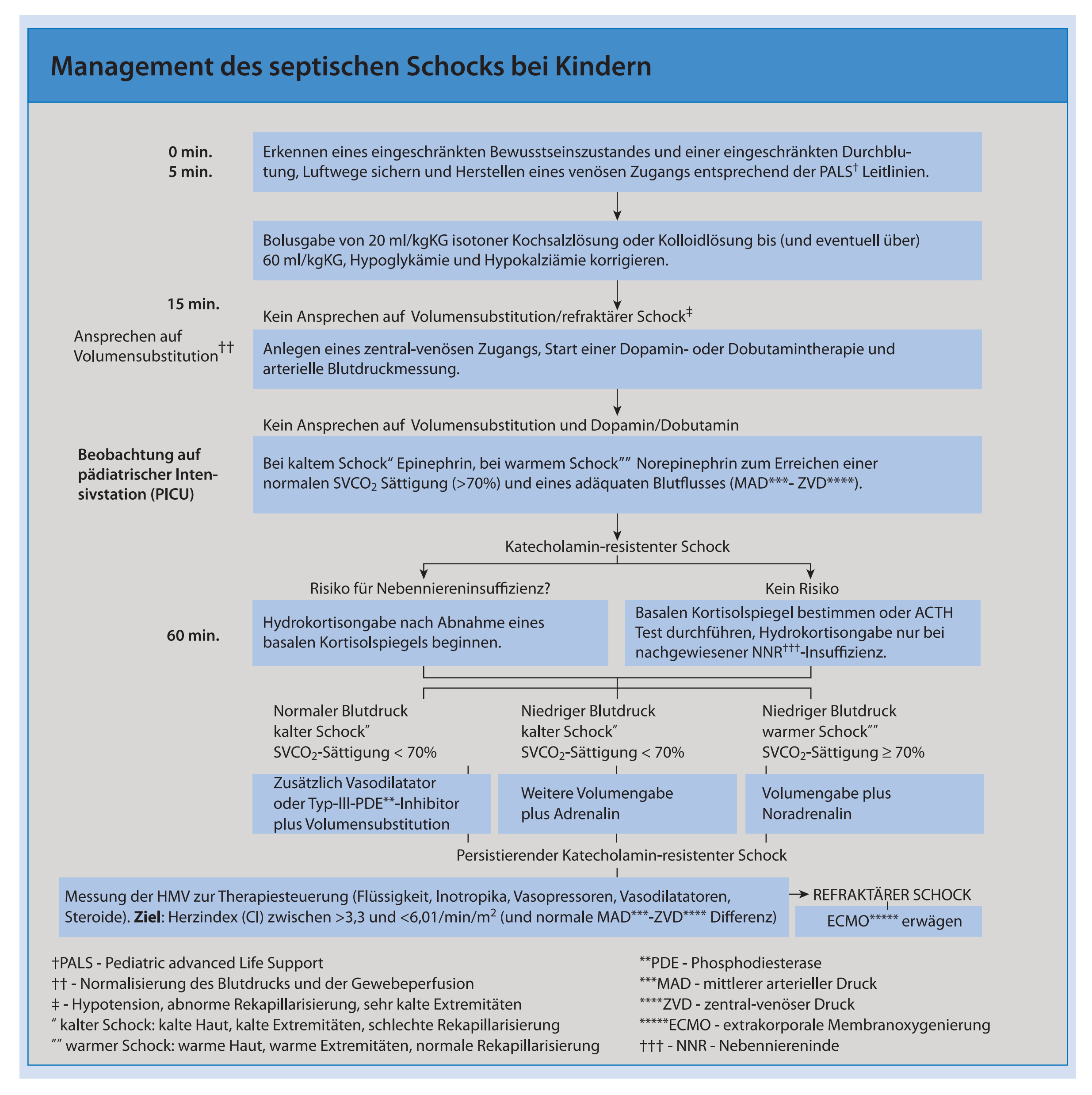



**Abb. 37.2.** Schocktherapie bei Kindern



randomisierte Multicenterstudie zum Einsatz von Antithrombinkonzentraten bei erwachsenen septischen Patienten konnte keinen Überlebensvorteil in der Verumgruppe gegenüber Placebo zeigen [3]. Post-hoc-Analysen zeigten jedoch einen erheblichen Unterschied im Outcome nach Antithrombinsubstitution bei Patienten mit und ohne begleitende Heparintherapie [4]. Während die Kombination von Heparin und Antithrombin eine signifikante Steigerung des Blutungsrisikos verursachte, zeigten mit Antithrombin behandelte Patienten ohne begleitende Heparintherapie eine im Vergleich zur Placebogruppe geringere Mortalität. Die Gabe von Antithrombinkonzentraten bei Patienten mit Purpura fulminans kann daher erwogen werden, Kombinationen mit Heparin sind, wenn möglich, zu vermeiden. Angaben zur Dosierung finden sich in Tab. 37.1).

## Protein C

Die ersten Substitutionen von Protein-C-Konzentraten bei Patienten mit Meningokokkensepsis und Purpura fulminans wurde von Owen Smith in Dublin [5] sowie von unserer Arbeitsgruppe publiziert [6]. Neben einer Überlebensrate, die deutlich oberhalb der von Scores wie dem Glasgow Meningococcal Prognostic Score prädiktierten

**Tab. 37.1.** Gerinnungsaktive Therapieoptionen bei Purpura fulminans

| | |
|---|---|
| **Humanes Protein-C-Konzentrat (Ceprotin®)** | |
| Indikation | Da bei der Purpura fulminans immer ein Versagen des Protein-C-Systems vorliegt, ist bei sichtbaren, progredienten typischen kutanen Läsionen immer eine Substitutionstherapie sinnvoll. Fallserien zeigen eine hervorragende Wirksamkeit von Protein C. |
| Dosis | – Bolus: wenn kein initialer Protein-C-Spiegel vorliegt: 100 U/kgKG i.v., sonst: (100 minus initialer Protein-C-Spiegel) × kgKG<br>– Dauerinfusion beginnend mit 10 U/kgKG/h, angepasst nach Protein-C-Spiegel (z. B. bei Abweichungen vom Zielspiegel von >25%: Dosis Erhöhung oder Verminderung um 25%) |
| Spezifisches Monitoring | Protein-C-Aktivität, möglichst 2-mal täglich, Ziel: 100% |
| Bemerkung | Purpura fulminans und DIC sind keine zugelassenen Indikationen, die Entscheidung zur Therapie basiert auf den bisher publizierten Fallserien und der exzessiv hohen Mortalität der Erkrankung. Blutungskomplikationen wurden in der Literatur bislang nicht berichtet. |
| **Aktiviertes rekombinantes humanes Protein C (Xigris®)** | |
| Indikation | Da bei der Purpura fulminans immer ein Versagen des Protein-C-Systems vorliegt, ist bei sichtbaren typischen kutanen Läsionen eine Substitutionstherapie sinnvoll. Einzelne Fallberichte zeigen eine Wirksamkeit von APC. |
| Dosis | 24 µg/kgKG/h für max. 96 h |
| Spezifisches Monitoring | Keines |
| Bemerkung | Zugelassen zur Therapie der schweren Sepsis bei erwachsenen Patienten. Vorsicht bei manifester Koagulopathie, da Blutungskomplikationen auftreten können. Anwendung bei Kleinkindern mit deutlicher Blutungsgefahr assoziiert. Gabe bei Thrombozytopenie $30 \times 10^{-9}$/l kontraindiziert. |
| **Heparin** | |
| Indikation | Bei der DIC sinnvoll, wenn Mikrozirkulationsstörungen vorliegen. |
| Dosis | APTT-gesteuerte Dauerinfusion, Beginn mit 10 E/kgKG/h |
| Spezifisches Monitoring | APTT, Ziel: 1,5- bis 2-fache Verlängerung (50–60 s) |
| Bemerkung | Vorsicht bei manifester Koagulopathie. Hohes Blutungsrisiko, v. a. bei Kombination mit Antithrombinkonzentraten sowie bei niedrigen Thrombozytenzahlen. |
| **Antithrombinkonzentrate** | |
| Indikation | Bei DIC wahrscheinlich sinnvoll zur Unterbrechung der Gerinnungsaktivierung |
| Dosis | – Bolus: wenn kein initialer Antithrombinspiegel vorliegt: 80 U/kgKG i.v., sonst: (100 minus initialer Antithrombinspiegel) × kgKG<br>– Dauerinfusion beginnend mit 2–4 U/kgKG/h, angepasst nach Antithrombinspiegel (z. B. bei Abweichungen vom Zielspiegel von >25%: Dosis Erhöhung oder Verminderung um 25%) |
| Spezifisches Monitoring | Antithrombinspiegel 2-mal täglich, Ziel: 100% |
| Bemerkung | Möglichst nicht mit Heparin kombinieren, da erhöhte Blutungsgefahr und verminderte anti-inflammatorische Wirkung |
| **Fibrinogenkonzentrate** | |
| Indikation | DIC und Fibrinogenspiegel <100 mg/dl |
| Dosis | Bolusgabe ca. 60 mg/kgKG täglich |
| Spezifisches Monitoring | Plasmafibrinogenaktivität, Ziel: >100 mg/dl |
| Bemerkung | |
| **Plasma, FFP** | |
| Indikation | DIC, Verbrauchskoagulopathie zur »balancierten, physiologischen« Substitution von gerinnungsaktiven Proteinen |
| Dosis | Bolusgabe ca. 30 ml/kgKG täglich |
| Spezifisches Monitoring | Quick, Ziel: >40% |
| Bemerkung | Volumen- und Eiweißbelastung, Infektionsrisiko, Transfusionslunge |





**Abb. 37.3a,b.** Eine 6 Jahre alte Patientin mit Purpura fulminans und Meningokokkensepsis. **a** Aufnahme ca. 6 h nach den ersten Symptomen, **b** 4 Wochen nach Behandlungsende. Therapie mit humanem Protein-C-Konzentrat über 5 Tage. Leichte Narbenbildung an Beinen, vollständige Rückbildung der PF-Läsionen im Gesicht und am Stamm, keine Amputationen oder Hauttransplantationen



Erwartung liegt, zeigte sich ein klinisch extrem eindrucksvoller Effekt einer Protein-C-Substitution auf die Purpura fulminans, die sich bei vielen Patienten annährend vollständig zurück bildete (Abb. 37.3a,b).

Nebenwirkungen der Therapie mit humanem, nicht aktiviertem Protein-C-Zymogen, insbesondere Blutungsereignisse, wurden von uns auch bei der Anwendung in einem größeren Kollektiv dieser thrombozytopenen Patienten nicht beobachtet [7]. Auch andere Arbeitsgruppen bestätigten das gute Sicherheitsprofil der Substanz bei der Behandlung von Kindern [8, 9] und erwachsenen Patienten [10] mit menigokokkeninduziertem septischen Schock und Purpura fulminans.

In einer großen retrospektiven Multicenterstudie, die 102 Patienten erfasste, wurden bei keinem der Patienten unter oder unmittelbar nach der Behandlung schwere Nebenwirkungen, insbesondere Blutungsereignisse dokumentiert (Dosierungen siehe Tab. 37.1).

### Aktiviertes Protein C

Patienten mit Meningokokkensepsis sind aufgrund der mit der Erkrankung einhergehenden Thrombozytopenie in der Regel sehr blutungsgefährdet. Der Einsatz von rekombinantem aktiviertem Protein C, welcher bei erwachsenen Patienten mit schwerer Sepsis eine signifikante Verbesserung der Überlebenswahrscheinlichkeit zeigte, stößt daher bei Kindern mit Purpura fulminans an seine Grenzen.

Tatsächlich beinhalteten die Ausschlusskriterien der PROWESS-Studie eine Thrombozytenzahl von <30 G/l. Eine Studie zum Einsatz von rekombinantem aktivierten Protein C bei Kindern mit Sepsis, welche nicht auf Patienten mit Meningokokkenmeningitis und Purpura fulminans beschränkt war, wurde aufgrund des erhöhten Auftretens von schweren Blutungsereignissen und mangelnder Effizienz vorzeitig beendet [11].

### Thrombolyse

Aktive Lysetherapien mit Thrombolytika, wie z. B. rt-PA (»recombinant tissue-plasminogen activator«), erscheinen aufgrund der Pathophysiologie eine vielversprechende Option, um die thrombosierte Mikrozirkulation zu eröffnen, sie sind in der Praxis jedoch aufgrund der erheblichen Blutungsgefahr der schwer kranken und thrombozytopenischen Patienten nur schwer zu realisiseren. Der Einsatz von rt-PA bei Patienten mit Purpura fulminans zeigte in unserem eigenen Patientenkollektiv keinen Erfolg und war mit einer erheblichen Mortalität korreliert [12]. Andere Studien zeigten bessere Ergebnisse, wiesen jedoch ebenfalls eine inakzeptable Rate an schweren Blutungsereignissen auf [13].

Der Einsatz von rt-PA sollte daher nur in klinischen Ausnahmesituationen wie drohendem Extremitätenverlust erwogen werden. In diesen Fällen ist ggf. eine niedrig dosierte lokale Therapie (0,05 mg/kgKG/h rt-PA) über entsprechend positionierte Katheter in Erwägung zu ziehen. Ein möglicher Therapiealgorithmus findet sich in Abb. 37.4.

### Weitere Therapieoptionen und Follow-up

Bei drohendem Extremitätenverlust durch ausgeprägte Kompartmentsyndrome sollte eine frühzeitige Fasziotomie zur Sicherung der Perfusion erwogen werden. Die tiefen Nekrosen der Purpura fulminans machen häufig eine plastische Versorgung mit Hauttransplantationen notwendig. In Fallserien von nicht mit Protein-C-Konzentraten behandelten Patientenkollektiven liegt die Rate an Amputationen und/oder Hauttransplantationen bei >68% [14].

Die Versorgung in Zentren für Schwerbrandverletzte ist v. a. im Follow-up von schwer betroffenen Patienten eine Option.

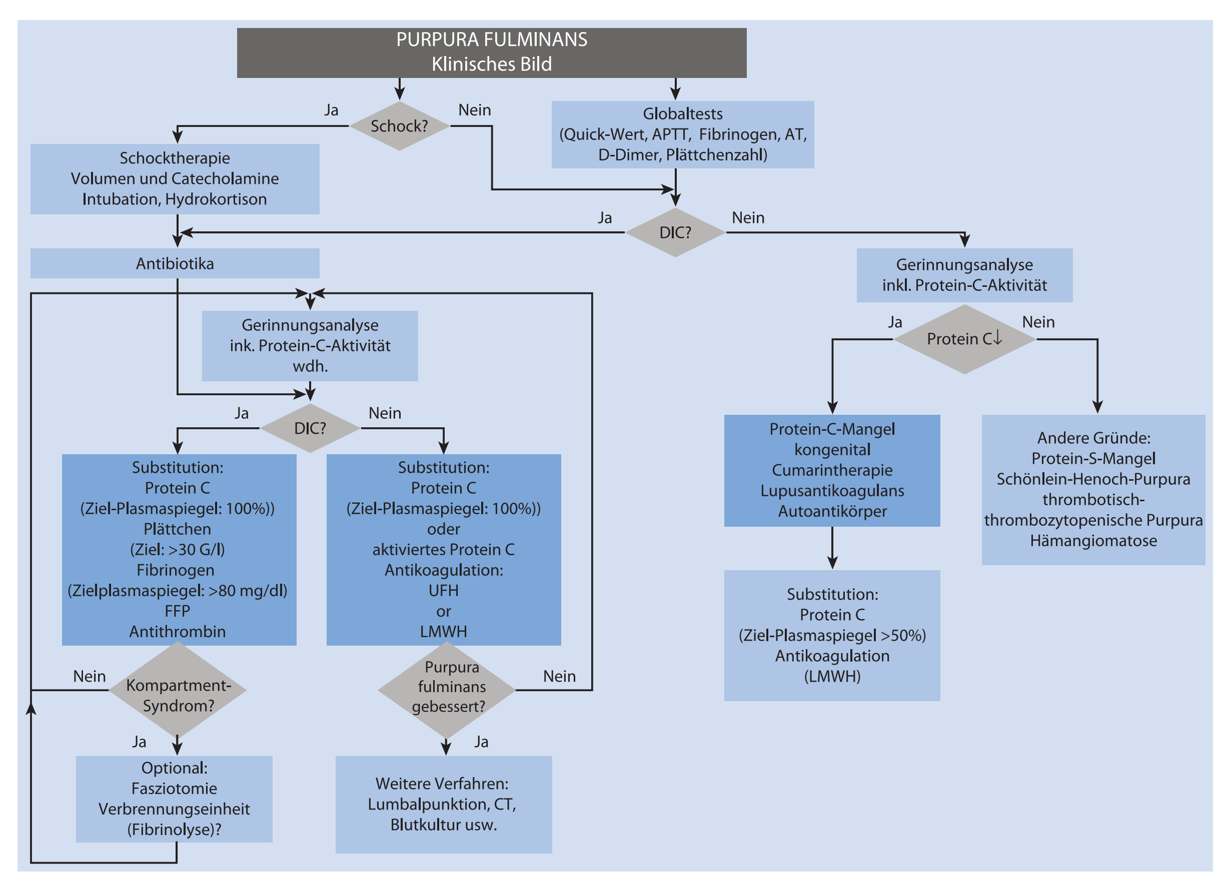



**Abb. 37.4.** Therapiealgorithmus Purpura fulminans. *APTT* aktivierte partielle Thromboplastinzeit; *AT* Antithrombin; *CT* Computertomographie; *DIC* disseminierte intravasale Grinnung; *FFP* »fresh frozen plasma«; *LMWH* »low molecular weight heparin«; *UFH* unfraktioniertes Heparin

## 37.2 HUS und TTP im Kindesalter

Die thrombotischen Mikroangiopathien thrombotisch-thrombozytopenische Purpura (TTP) und hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS) präsentieren sich klinisch mit den Symptomen der hämolytischen Anämie, fragmentierten Erythrozyten im peripheren Blutausstrich mit konsekutiver LDH-Erhöhung und hyalinen Thromben in der Mikrozirkulation. Letzteres führt beim HUS zum Leitsymptom des akuten Nierenversagens, während bei der TTP akutes Nierenversagen und variable neurologische Symptomatik mit Verwirrtheitszuständen, Kephalgien, Aphasien, Parästhesien, Krampfanfällen und Bewusstseinstörungen von Zeichen der thrombosierten Mikrozirkulation in verschiedenen anderen Organsystemen begleitet werden. Beschrieben sind retinale Ischämien mit Visusverlust, Koronarperfusionsstörungen mit Herzrhythmusstörungen sowie abdominelle Schmerzkrisen im Sinne einer Mesenterialangina.

Eine Klassifikation der in der klinischen Präsentation zum Teil überlappenden thrombotischen Mikroangiopathien HUS und TTP und assoziierte Krankheitbilder im Kindesalter wurde von der European Pediatric Research Group for HUS unlängst publiziert (siehe Übersicht; [15]).

### Klassifikation der thrombotischen Mikroangiopathien HUS und TTP

**Auf Ätiologie basierende Klassifikation:**

- Infektionsinduziert:
  - Shiga- und Verocytotoxin (»shigella-like toxin«) produzierende Bakterien
  - enterohämorrhagische Escherichia coli, Shigella dysenteriae Typ1
  - Citrobacter frundii
  - Streptococcus pneumoniae
  - Neuraminidase produzierende Pneumokokken
  - T-Antigen-Exposition
- Störungen der Komplementregulation
  - genetisch
  - erworben (z. B. Anti-FH-Antikörper)

▼

- ADAMTS13-Mangel
  - genetisch
  - erworben
- pathologischer Cobalaminmetabolismus
- Chinin-induziert

**Klinische Assoziation, Ätiologie unbekannt:**
- HIV
- maligne Erkrankungen, Chemotherapie und Bestrahlung
- Calcineurininhibitoren und Transplantation
- Schwangerschaft, HELLP-Syndrom, orale Kontrazeptiva
- systemischer Lupus erythematodes
- Nierenerkrankungen
- nicht kassifizierbar

### 37.2.1 HUS

#### Pathogenese

Das HUS wird bei Infektionen mit Shigatoxin (»shigella like toxin«, Stx) produzierenden E. Coli O157:H7 bei ca. 9–30% der infizierten Kinder mit den klinischen Symptomen der blutigen Gastroenteritis beobachtet. Ein HUS kann auch von anderen E.-coli-Serotypen, von Citrobacter frundii sowie durch Infektionen mit Neuraminidase produzierenden Pneumokokken verursacht werden.

Nicht infektiöse, atypische familiär auftretende HUS sind bei Patienten mit Mutationen im Komplementsystem beschrieben, insbesondere Mutationen in den Regulationsfaktoren Faktor H und MCP (»membrane cofactor protein«) [16, 17].



Vom HUS sind überwiegend Kinder im Vorschulalter betroffen. Pathogenetisch liegt dem HUS eine Endothelzellaktivierung durch Shigatoxine oder Komplement zugrunde. Nachfolgend kommt es zur Thrombenbildung in der renalen Mikrozirkulation. Das Endothel der Glomeruli weißt eine hohe Dichte des Glykopeptids GP3 auf, welches den Membranrezeptor des Stx darstellt. Die renalen Glomeruli sind daher beim HUS besonders betroffen. Im Gegensatz zur TTP zeigen Patienten mit klassischem HUS häufig pathologische Globalgerinnungstests. D-Dimere, Prothrombinfragmente 1-2 sowie t-PA-Antigen und PAI-1 sind erhöht. Im Gegensatz zur TTP weisen HUS Patienten in der Regel keinen ADAMTS13-Mangel auf [18].

#### Therapie

ADAMTS13 – Die Therapie des HUS beschränkt sich auf supportive Maßnahmen. Im Vordergrund steht die Therapie des akuten Nierenversagens mit Management von Flüssigkeits- und Elektrolythaushalt. Die Indikation zur kontinuierlichen Nierenersatztherapie sollte großzügig gestellt werden.

**Cave**

Eine Therapie der Diarrhö mit Motilitätshemmern ist kontraindiziert (Gefahr des toxischen Megakolons). Gegen E. coli gerichtete Antibiotikatherapien fördern die Freistezung von Stx und sollten daher vermieden werden [19].

Plasmaaustausch und Gabe von FFP wurden bei HUS-Patienten mit unterschiedlichem Erfolg eingesetzt [20–22], Therapien mit Protein-C-Konzentraten zeigten in Einzelfallberichten Erfolge. Patienten mit Faktor-H-Mangel werden im akuten Schub mit Plasmaaustausch behandelt, hierdurch konnte jedoch bisher weder eine Verminderung der Häufigkeit der HUS-Krisen noch der Progression zum terminalen Nierenversagen erreicht werden [16, 17].

Stx-bindende und neutralisierende Substanzen zeigten in der oralen Anwendung bisher keinen klinischen Erfolg [23].

### 37.2.2 TTP und kongenitale TTP

#### Pathogenese

Pathogenetisch beruht die TTP auf der Freisetzung von ultralangen Von-Willebrand-Multimeren aus Endothelzellen mit vermindertem Abbau dieser großen Moleküle durch die vWF-spaltende Metalloprotease ADAMTS13. Dies führt zur Persistenz von ultralangen Von-Willebrand-Multimeren in der Mikrozirkulation mit nachfolgender mechanischer Hämolyse und Thrombosierung der Mikrozirkulation.

Während bei der adulten erworbenen Form der TTP in der Regel Autoantikörper gegen ADAMTS13 zur Persistenz der ultralangen Von-Willebrand-Multimeren führen, ist die kongenitale TTP durch eine angeborene verminderte Plasmaaktivität der ADAMTS13 gekennzeichnet [18]. Die hereditäre, autosomal rezessiv vererbte Form des schweren ADAMTS13-Mangels (Upshaw-Shulman-Syndrom) ist eine seltene, wenn auch wahrscheinlich unterdiagnostizierte, potenziell lebensbedrohliche Krankheit mit häufigen Rezidiven. Die Restaktivität der ADAMTS13 beträgt bei diesen Patienten weniger als 5%, im Gegensatz zu Patienten mit HUS oder atypischem HUS, die eine ADAMTS13-Aktivität von >60% aufweisen [18].

#### Therapie

Plasmaaustausch ist die Therapie der Wahl bei Patienten mit erworbener TTP. Seit Einführung dieser Therapie konnte ein Rückgang der Mortalität von 95 auf 20% dokumentiert werden [24].

**! Sowohl Plasmatransfusionen als auch Plasmaaustausch zeigten Therapieerfolge bei TTP-Patienten, wobei letztere Therapieform ein deutlich geringeres Risiko der Flüssigkeitsüberladung beinhaltet und in der Lage ist, evtl. vorhandene Autoantikörper zu eliminieren.**

Therapien mit Imunsuppressiva [24], Zytostatika (Vincristin [25]) sowie Rituximab [26] sind bei Patienten mit erworbener TTP ergänzend zum Plasmaaustausch erfolgreich durchgeführt worden.

Patienten mit kongenitaler TTP ohne Inhibitor benötigen eine weniger agressive Therapie und können mit Plasma erfolgreich therapiert werden. Die Halbwertszeit von ADAMTS13 im Plasma beträgt 2–3 Tage. Eine klinische Symptomatik wird nur bei extrem niedrigen Plasmaaktivitäten beobachtet, sodass diese Patienten mit Plasma (FFP 10 ml/kgKG, 2- bis 4-mal wöchentlich) in der Regel symptomfrei bleiben [27]. Eine Prophylaxe durch die Gabe von »intermediate purity«-FactorVIII-Konzentraten (BPL 8Y 15–30 IU/kgKG, Bioproducts Laboratory, Elstree, Herts, UK ) ist ebenfalls beschrieben [28].

Rekombinantes humanes ADAMTS13 befindet sich zurzeit im experimentellen Stadium der Erprobung.

## 37.3 Plasmaaustausch bei Kleinkindern

Neben der Therapie der neonatalen Hyperbilirubinämie, bei der partielle Austauschtransfusionen mit Vollblut oder Mischungen aus Erythrozytenkonzentraten und FFP durchgeführt werden, wird der therapeutische Plasmaaustausch im Kindes-und Säuglingsalter bei Autoimmunerkrankungen, Sepsis sowie nach Organtransplantationen durchgeführt. Hinzu kommen verwandte Techniken der kontinuierlichen Nierenersatztherapie, die beim akuten Nierenversagen sowie zur Elimination von Amoniak bei Patienten mit angeborenen Stoffwechselerkrankungen zum Einsatz kommen.

Zum therapeutischen Plasmaaustausch werden die Verfahren der Zellseparation und der Plasmafiltration eingesetzt, im Säuglings- und Kleinkindesalter kommt annähernd ausschließlich die Plasmafiltration mit Plasmafiltern zum Einsatz. Miniaturisierte Systeme erlauben den Einsatz auch bei Neugeborenen, in der Regel stellt hier der notwendige Gefäßzugang den limiterenden Faktor dar. Der erforderliche extrakorporale Kreislauf lässt sich meist ab 3 kgKG, in Ausnahmefällen auch ab 2,5 kgKG realisieren [29].

Als Gefäßzugang finden doppel- oder einlumige Katheter ab 7 F Verwendung, diese können mittels Seldingertechnik eingebracht werden. Punktionen von V. femoralis, V. jugularis und V. subclavia sind erfolgreich beschrieben worden. In Einzelfällen können diese Verfahren bei kleinen Säuglingen auch über arterielle Gefäßzugänge gespeist werden (z. B. 4-F-Terumoschleuse in die A. femoralis).

Um eine Thrombosierung des Filters zu vermeiden, sind Blutflussraten von 15–40 ml/min notwendig. Die Antikoagulation erfolgt meist mit unfraktioniertem Heparin (5 IU/kgKG/h) eine ACT (»activated clotting time«) von 180–200 s sollte angestrebt werden. Eine Antikoagulation mit Prostazyklin ist beschrieben [29].

Für Säuglinge und Kleinkinder kommen meist Plasmafilter mit 10 ml oder 40 ml zum Einsatz (Curesis, Organon Tekina, Boxtel, Niederlande; PF 1000 Gambo, Lund, Schweden). Die Systeme können aufgrund des im Verhältnis zum Körpergewicht großen Füllvolumens teilweise oder vollständig mit Vollblut vorgefüllt werden, eine Heparinisierung des Systems mit 0,2 IU/ml hat sich bewährt.

**! Eine genaue Bilanz der verschobenen Flüssigkeitsvolumina sowie häufige Elektrolytkontrollen sind bei den kleinen Patienten von äußerster Wichtigkeit, der Einsatz von vollautomatisierten Nierenersatzsystemen erlaubt hierbei eine genaue Balance von Substitution und Entzug.**

### Literatur


[1] Dellinger RP, Carlet JM, Masur H et al. (2004) Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. Crit Care Med 32(3): 858–873

[2] Parker MM, Hazelzet JA, Carcillo JA. (2004) Pediatric considerations. Crit Care Med 32(11 Suppl): S591–S594

[3] Warren BL, Eid A, Singer P et al. (2001) Caring for the critically ill patient. High-dose antithrombin III in severe sepsis: a randomized controlled trial. JAMA 286(15): 1869–1878

[4] Hoffmann JN, Wiedermann CJ, Juers M et al. (2006) Benefit/risk profile of high-dose antithrombin in patients with severe sepsis treated with and without concomitant heparin. Thromb Haemost 95(5): 850–856

[5] Smith OP, White B, Vaughan D et al. (1997) Use of protein-C concentrate, heparin, and haemodiafiltration in meningococcus-induced purpura fulminans. Lancet 350(9091): 1590–1593

[6] Kreuz W, Veldman A, Escuriola-Ettingshausen C, Schneider W, Beeg T (1998) Protein-C concentrate for meningococcal purpura fulminans. Lancet 351(9107): 986–987

[7] Ettingshausen CE, Veldmann A, Beeg T, Schneider W, Jager G, Kreuz W (1999) Replacement therapy with protein C concentrate in infants and adolescents with meningococcal sepsis and purpura fulminans. Semin Thromb Hemost 25(6): 537–541

[8] Pettenazzo A, Malusa T (2004) Use of protein C concentrate in critical conditions: clinical experience in pediatric patients with sepsis. Minerva Anestesiol 70(5): 357–363

[9] Silvani P, Camporesi A, Licari E, Wolfler A (2005) Use of protein C concentrate in pediatric patients with sepsis. Minerva Anestesiol 71(6): 373–378

[10] Schellongowski P, Bauer E, Holzinger U et al. (2006) Treatment of adult patients with sepsis-induced coagulopathy and purpura fulminans using a plasma-derived protein C concentrate (Ceprotin). Vox Sang 90(4): 294–301

[11] Nadel S, Goldstein B, Williams MD et al. (2007) Drotrecogin alfa (activated) in children with severe sepsis: a multicentre phase III randomised controlled trial. Lancet 369(9564): 836–843

[12] Veldman A, Ehrenberg A, Jager G, Ettingshausen CE, Schneider W, Kreuz W (2000) Is recombinant tissue plasminogen activator an option in the treatment of meningococcus-induced purpura? Crit Care Med 28(2): 598–600

[13] Zenz W, Zoehrer B, Levin M et al. (2004) Use of recombinant tissue plasminogen activator in children with meningococcal purpura fulminans: a retrospective study. Crit Care Med 32(8): 1777–1780

[14] Gurgey A, Aytac S, Kanra G, Secmeer G, Ceyhan M, Altay C (2005) Outcome in children with purpura fulminans: report on 16 patients. Am J Hematol 80(1): 20–25

[15] Besbas N, Karpman D, Landau D et al. (2006) A classification of hemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura and related disorders. Kidney Int 70(3): 423–431

[16] Noris M, Brioschi S, Caprioli J et al. (2003) Familial haemolytic uraemic syndrome and an MCP mutation. Lancet 362(9395): 1542–1547

[17] Warwicker P, Donne RL, Goodship JA et al. (1999) Familial relapsing haemolytic uraemic syndrome and complement factor H deficiency. Nephrol Dial Transplant 14(5): 1229–1233

[18] Schneppenheim R, Budde U, Oyen F et al. (2003) von Willebrand factor cleaving protease and ADAMTS13 mutations in childhood TTP. Blood 101(5): 1845–1850

[19] Wong CS, Jelacic S, Habeeb RL, Watkins SL, Tarr PI (2000) The risk of the hemolytic-uremic syndrome after antibiotic treatment of Escherichia coli O157: H7 infections. N Engl J Med 342(26): 1930–1936

[20] Dundas S, Murphy J, Soutar RL, Jones GA, Hutchinson SJ, Todd WT (1999) Effectiveness of therapeutic plasma exchange in the 1996 Lanarkshire Escherichia coli O157: H7 outbreak. Lancet 354(9187): 1327–1330

[21] Rizzoni G, Claris-Appiani A, Edefonti A et al. (1988) Plasma infusion for hemolytic-uremic syndrome in children: results of a multicenter controlled trial. J Pediatr 112(2): 284–290

[22] Sheth KJ, Gill JC, Hanna J, Leichter HE (1988) Failure of fresh frozen plasma infusions to alter the course of hemolytic uremic syndrome. Child Nephrol Urol 9(1–2): 38–41

[23] Trachtman H, Cnaan A, Christen E et al. (2003) Effect of an oral Shiga toxin-binding agent on diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome in children: a randomized controlled trial. JAMA 290(10): 1337–1344

[24] Sadler JE, Moake JL, Miyata T, George JN (2004) Recent advances in thrombotic thrombocytopenic purpura. Hematology Am Soc Hematol Educ Program 407–423

[25] Gutterman LA, Stevenson TD.(1982) Treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura with vincristine. JAMA 247(10): 1433–1436

[26] Yomtovian R, Niklinski W, Silver B, Sarode R, Tsai HM (2004) Rituximab for chronic recurring thrombotic thrombocytopenic purpura: a case report and review of the literature. Br J Haematol 124(6): 787–795

[27] Loirat C, Veyradier A, Girma JP, Ribba AS, Meyer D (2006) Thrombotic thrombocytopenic purpura associated with von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13) deficiency in children. Semin Thromb Hemost 32(2): 90–97

[28] Scully M, Gattens M, Khair K, Liesner R (2006) The use of intermediate purity factor VIII concentrate BPL 8Y as prophylaxis and treatment in congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. Br J Haematol 135(1): 101–104

[29] Ponikvar R, Kandus A, Urbancic A, Kornhauser AG, Primozic J, Ponikvar JB (2002) Continuous renal replacement therapy and plasma exchange in newborns and infants. Artif Organs 26(2): 163–168

[30] Carcillo JA, Fields AI (2002) American College of Critical Care Medicine Task Force Committee Members: Clinical practice parameters for hemodynamic support of pediatric and neonatal patients in septic shock. Crit Care Med 30: 1365–1378

# 34 Komplexe Gerinnungsstörungen

## 34.1 Thrombotisch-thrombozytopenische Purpura, hämolytisch-urämisches Syndrom und andere thrombotische Mikroangiopathien

*B. Lämmle, J. A. Kremer Hovinga*

### Einleitung

Die thrombotisch-thrombozytopenische Purpura (TTP) und das hämolytisch-urämische Syndrom (HUS) sind thrombotische Mikroangiopathien, gekennzeichnet durch eine Endothelzellschädigung mit nachfolgender Bildung von Thromben in der Mikrozirkulation mit intravasaler Hämolyse und Thrombozytopenie. Ischämische Organdysfunktionen im Gehirn, den Nieren und anderen Organen prägen das klinische Bild. Während bei Erwachsenen das Auftreten einer neurologischen Symptomatik zur Diagnose TTP führt, wird bei Kindern mit dem Leitsymptom Nierenversagen die Diagnose HUS gestellt.

Das mit Diarrhoe assoziierte HUS wird verursacht durch Verozytotoxin produzierende enterohämorrhagische Bakterien. Die Pathogenese des atypischen HUS beinhaltet eine übermäßige Komplementaktivierung, bei der TTP wird häufig eine schwere Defizienz der vWF-spaltenden Protease ADAMTS13 gefunden. Klinisch sind TTP und atypisches HUS oft nicht unterscheidbar. Der Nachweis eines schweren ADAMTS13-Mangels untermauert die klinische Diagnose einer TTP.

Therapie der Wahl bei idiopathischer TTP ist die Plasmapherese, die wegen der hohen Mortalität umittelbar nach klinischer Diagnosestellung eingeleitet werden sollte. Das Rezidivrisiko der TTP ist hoch, das atypische HUS führt oft zu terminalem Nierenversagen.



### 34.1.1 Historische Aspekte, Terminologie

Der New Yorker Arzt Dr. Eli Moschcowitz beschrieb 1924 den Fall eines 16-jährigen Mädchens, welches akut erkrankte und nach 2-wöchigem progredientem Krankheitsverlauf mit petechialen Blutungen, Blässe, Fieber, Paralyse, Hämaturie und schließlich Koma verstarb (Moschcowitz 1924). Autoptisch fanden sich disseminierte »hyaline« Thromben in der Mikrozirkulation. Diese diffusen Thromben in Arteriolen und Kapillaren, nach heutigem Wissen vornehmlich aus Thrombozytenaggregaten bestehend (Asada et al. 1985), mit konsekutiver Organischämie sind der pathologisch-anatomisch diagnostische Wegweiser der Moschcowitz-Krankheit oder thrombotisch-thrombozytopenischen Purpura (TTP).

Amorosi und Ultmann (1966) publizierten 16 eigene Fälle, verglichen sie mit den 255 in der Literatur rapportierten TTP-Patienten und leiteten folgende diagnostische Kriterien ab:

- mikroangiopathisch-hämolytische Anämie mit fragmentierten Erythrozyten (Fragmentozyten, Schistozyten) im peripheren Blutausstrich (Abb. 34.1),
- Thrombozytopenie,
- neurologische Symptome und Befunde, oft fluktuierender Natur,
- Nierendysfunktion,
- Fieber.

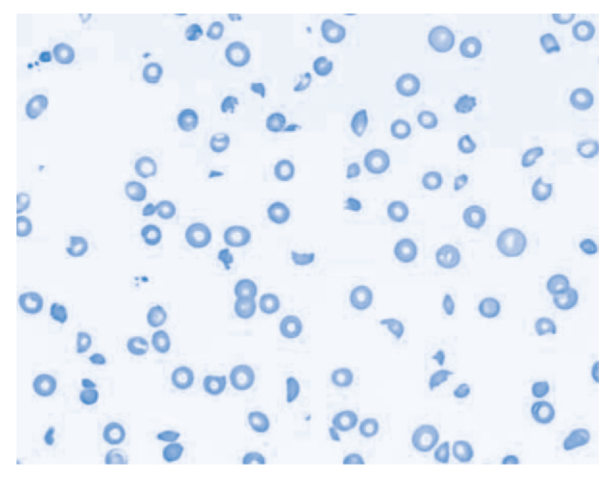


**Abb. 34.1.** Peripherer Blutausstrich eines Patienten mit akuter TTP: zahlreiche fragmentierte Erythrozyten (Fragmentozyten) und schwere Thrombozytopenie

Heute wird angenommen, dass das klinische Bild der TTP durch eine Thrombozytenverklumpung unter hohen Scherkräften in der Mikrozirkulation zustande kommt mit resultierender Verbrauchsthrombozytopenie und ischämischen Organdysfunktionen im Gehirn, den Nieren und anderen Organen sowie intravasaler Erythrozytenfragmentation in

den (partiell) obstruierten Arteriolen und Kapillaren (Moake 2002; Lämmle et al. 2005).

Eine der TTP sehr ähnliche Krankheitssymptomatik wurde von Gasser et al. (1955) als hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS) bei 5 Kindern beschrieben.

In der klinischen Praxis wurde traditionell die Diagnose TTP vorwiegend bei adulten Patienten mit im Vordergrund stehender neurologischer Symptomatik gestellt, die Diagnose HUS hingegen v. a. bei Kindern mit vorwiegendem Nierenversagen. Allerdings wurde diese diagnostische Trennung nie allgemein akzeptiert und gewisse Autoren, gestützt auf den klinisch oft überlappenden Krankheitsphänotyp, bevorzugen bis heute die komprehensive Diagnose TTP-HUS (George 2000; George et al. 2008; ► Kap. 34.1.2). Davon ausgenommen sind Kinder und seltener ältere Patienten, die in Folge einer hämorrhagischen Kolitis, verursacht durch eine Infektion mit Verozytotoxin produzierenden enterohämorrhagischen Bakterien (v. a. Escherichia coli O157:H7) eine intravasale Hämolyse, Thrombozytopenie und ein Nierenversagen erleiden. Dieses Krankheitsbild wird allgemein als Diarrhoe-positives (D+) HUS oder typisches HUS diagnostiziert.

TTP und HUS werden aufgrund der angenommenen Pathophysiologie auch als thrombotische Mikroangiopathien (TMA) bezeichnet. Neben sogenannten idiopathischen Fällen von TTP und HUS mit schwerer Erkrankung bei vormals Gesunden können ähnliche klinische Bilder und Laborbefunde (Thrombozytopenie, hämolytische Anämie mit Fragmentozyten, LDH-Erhöhung, vermindertes Haptoglobin) auch im Rahmen einer Schwangerschaft als sogenanntes HELLP-Syndrom (Hemolysis, elevated liver enzymes, low platelets), bei disseminierten Tumorerkrankungen, Therapie mit Mitomycin C und anderen Zytostatika, unter diversen anderen Medikamenten (z. B. Cyclosporin, Ticlopidin, Chinin) oder nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation auftreten. Diese Syndrome werden sehr variabel als TTP, HUS, TTP-HUS, »TTP-like disease«, sekundäre TTP oder allgemein als TMA bezeichnet (George 2000; Ruggenenti u. Remuzzi 1996). Wegen dieser uneinheitlichen Terminologie hat der nicht spezialisierte Leser oft Mühe, die Literatur zu Pathophysiologie, Diagnostik und Therapie kritisch zu werten.

### 34.1.2 Pathophysiologie der thrombotischen Mikroangiopathien (TMA)

#### Thrombotisch-thrombozytopenische Purpura

Über die Jahre wurden zahlreiche Hypothesen zur Ätiopathogenese der idiopathischen TTP aufgestellt (s. Übersichten bei Moake 2002; Ruggenenti u. Remuzzi 1996; Moake u. Chow 1998; Furlan u. Lämmle 2001). Unter anderem wurde ein Endothelschaden durch oxidativen Stress, eine verminderte endotheliale Prostazyklinproduktion, eine verminderte fibrinolytische Aktivität der Gefässwand, antiendotheliale Autoantikörper und speziell Autoantikörper gegen Glykoprotein IV (CD 36), welches auf mikrovaskulären Endothelzellen und Thrombozyten exprimiert wird, beschrieben (Tandon et al. 1994; Schultz et al. 1994). Ferner wurde berichtet, dass Plasma von Patienten mit akuter TTP in vitro eine Apoptose mikrovaskulärer Endothelzellen induzieren kann (Laurence et al. 1996). Im Serum bzw. Plasma von TTP-Patienten wurden ein 37-kDa- und ein 59-kDa-Protein sowie eine $Ca^{2+}$-abhängige Protease identifiziert und für die Thrombozytenaggregation in vivo verantwortlich gemacht.

1982 fanden Moake und Mitarbeiter »unusually large« Von-Willebrand-Faktor-Multimere (ULvWF) im Plasma von 4 Patienten mit chronisch rezidivierender TTP (Moake et al. 1982). Diese ULvWF-Multimere – größer als die hochpolymeren vWF-Spezies des normalen Plasmas und ähnlich denjenigen in Überständen von Endothelzellkulturen – sind extrem adhäsiv und wurden als ursächlich für die In-vivo-Thrombozytenverklumpung angesehen. Die Autoren vermuteten, dass eine fehlende Depolymerase für die Persistenz dieser ULvWF-Multimere verantwortlich sei (Moake et al. 1982).

Furlan et al. (1996) und Tsai (1996) beschrieben eine bisher unbekannte Metalloprotease, initial vWF-spaltende Protease genannt, welche spezifisch die Peptidbindung Tyr1605–Met1606 spaltet (Tyr842–Met843 in der Aminosäurensequenznummerierung ohne das vWF-Propeptid). Da diese Peptidbindung der physiologischen Spaltstelle des vWF entspricht (Dent et al. 1990), wurde der vWF-spaltenden Protease eine physiologische Bedeutung in der Regulation der vWF-Multimergröße beigemessen.

Furlan und Mitarbeiter berichteten 1997 über 4 Patienten, darunter 2 Brüder, mit chronisch rezidivierender TTP, deren Plasma während Krankheitsremission keinerlei Aktivität der vWF-spaltenden Protease und ULvWF-Multimere zeigte (Furlan et al. 1997). Ein Jahr später beobachteten wir einen weiteren Patienten mit schwerem TTP-Krankheitsverlauf, dessen Plasma ebenfalls eine fehlende Aktivität der vWF-spaltenden Protease zeigte und inhibierende IgG-Autoantikörper gegen die Protease enthielt (Furlan et al. 1998b). Die Autoantikörper verschwanden vorübergehend nach wiederholter Plasmapheresetherapie, Ersatz von frisch gefrorenem Plasma (FFP), Kortikosteroid- und Vincristintherapie. Begleitend normalisierten sich die Aktivität der vWF-spaltenden Protease, die Thrombozytenzahlen, Hämolyse und klinischen Manifestationen der TTP. Das Wiederauftreten des IgG-Autoantikörpers und Verschwinden der Proteaseaktivität nach 3 Monaten waren gefolgt von einem ersten Krankheitsrezidiv und erst die Splenektomie nach dem zweiten TTP-Rezidiv, ein Jahr nach Krankheitsbeginn, führte zu einer anhaltenden klinischen

Remission mit normalisierter Aktivität der vWF-spaltenden Protease (Furlan et al. 1998b).

Zwei große retrospektive Studien (Furlan et al. 1998a, Tsai et al. 1998) zeigten, dass 20 von 24, respektive 37 von 37 Patienten mit der klinischen Diagnose einer akuten sporadischen TTP eine schwere Defizienz der vWF-spaltenden Protease aufwiesen. In den meisten Fällen war dieser schwere Mangel der Proteaseaktivität assoziiert mit inhibierenden Autoantikörpern. Diese Autoantikörper und die schwere Proteasedefizienz verschwanden bei allen (Tsai et al. 1998) oder einigen Patienten (Furlan et al. 1998a) bei Erreichen einer Krankheitsremission. 6 weitere Fälle mit einer familiären TTP (3 Geschwisterpaare) zeigten eine fehlende vWF-spaltende Proteaseaktivität ohne Inhibitoren, und 23 Patienten mit der klinischen Diagnose eines HUS hatten eine normale oder subnormale Protease-Aktivität (Furlan et al. 1998a).

**! Damit war erwiesen, dass die erworbene oder konstitutionelle schwere Defizienz der vWF-spaltenden Protease, heute als ADAMTS13 (A disintegrin and metalloprotease with thrombospondin type 1 repeats) bezeichnet (Gerritsen et al. 2001; Fujikawa et al. 2001; Soejima et al. 2001; Zheng et al. 2001; Levy et al. 2001), einen pathogenetischen Faktor in der Pathogenese der TTP darstellt.**



## Hereditäre TTP

1978 folgerte Upshaw, dass eine junge Patientin mit rezidivierenden Episoden von mikroangiopathisch-hämolytischer Anämie und Thrombozytopenie eine kongenitale Defizienz eines Plasmafaktors aufweise, weil sich ihre Thrombozyten und die Hämolyse nach Plasmainfusionen normalisierten (Upshaw 1978). Dieser Plasmafaktor wurde 1997 als vWF-spaltende Protease identifiziert (Furlan et al. 1997) und 2001 fanden Levy und Mitarbeiter in einem genomweiten Screening bei Familien mit hereditärer TTP das entsprechende Gen, ADAMTS13, und identifizierten 12 verschiedene Mutationen dieses Gens, welche 14 der 15 Krankheitsallele bei ihren Familien erklärten (Levy et al. 2001). Bis 2008 sind über 90 Kandidatenmutationen im ADAMTS13-Gen bei Patienten mit hereditärer TTP (Upshaw-Schulman-Syndrom) bekannt geworden (▣ Abb. 34.2).

Patienten sind doppelt heterozygote oder – v. a. bei Konsanguinität – homozygote Träger einer ADAMTS13-Mutation. Missense-, Nonsense-, Splice-Site- und Frame-Shift-Mutationen verteilen sich über das gesamte ADAMTS13-Gen. Soweit bisher untersucht, führen diese Mutationen zu einem Sekretionsdefekt oder seltener zur Sekretion eines dysfunktionellen ADAMTS13-Moleküls (Kokame et al. 2002; Pimanda et al. 2004; Uchida et al. 2004; Matsumoto et al. 2004a; Schneppenheim et al. 2004; Donadelli et al. 2006; Plaimauer et al. 2006; Hommais et al. 2007). Während die Eltern als obligate heterozygote Mutationsträger ca. 50% ADAMTS13-Aktivität aufweisen und gesund sind, zeigen die betroffenen Patienten eine stark verminderte ADAMTS13-Aktivität (<5% des Normalplasmas).

Etwa die Hälfte der Patienten scheint in den ersten 5 Lebensjahren – oft schon im Neugeborenenalter – zu erkranken, die andere Hälfte erleidet hingegen einen ersten TTP-Schub erst im Erwachsenenalter, z. B. im Rahmen einer Schwangerschaft. Es konnten über 35-jährige asymptomatische Geschwister mit schwerem konstitutionellen ADAMTS13-Mangel identifiziert werden (Furlan u. Lämmle 2001).

**! Dies legt nahe, dass eine hereditäre schwere ADAMTS13-Defizienz zwar eng mit dem Krankheitsbild einer konstitutionellen TTP assoziiert ist, aber exogene Trigger, wie z. B. eine Schwangerschaft oder Infekte, oft nötig sind, um einen TTP-Schub auszulösen.**

Analog zeigt die ADAMTS13-Knock-out-Maus zwar einen prothrombotischen Phänotyp (Banno et al. 2006), um einen TTP-analogen Krankheitsschub auszulösen, ist aber ein exogener Trigger nötig, z. B. die Injektion von Shigatoxin (Motto et al. 2005).

Die Diagnose einer hereditären TTP wird – wahrscheinlich wegen der Seltenheit der Krankheit – oft erst verzögert oder gar erst post mortem gestellt (Furlan u. Lämmle 2001; Studt et al. 2005). Bei mehreren pädiatrischen Patienten wurden Jahre vor korrekter Diagnose Fehldiagnosen einer autoimmunen thrombozytopenischen Purpura (ITP) oder eines Evans-Syndroms gestellt (Schneppenheim et al. 2003).

Einige Patienten mit schwerem hereditären ADAMTS13-Mangel wurden klinisch als atypisches (D-) HUS diagnostiziert, da eine schwere Niereninsuffizienz im Vordergrund der klinischen Präsentation stand (Remuzzi et al. 2002; Veyradier et al. 2003). Dies zeigt, dass die klinische Unterscheidung zwischen TTP und atypischem HUS oft nicht möglich ist.

## Erworbene TTP

Nach den initialen Publikationen über die schwere autoantikörpervermittelte ADAMTS13-Defizienz bei Patienten mit sporadischer TTP wurden Zweifel an der Spezifität dieses Laborbefundes geäußert (Moore et al. 2001; Mannucci et al. 2001). Eine Studie an 68 Patienten mit Thrombozytopenie verschiedener Ursachen (außer TTP und HUS) zeigte, dass kein Patient eine schwer verminderte ADAMTS13-Aktivität aufwies, in klarem Gegensatz zu TTP-Patienten, was die Spezifität der schweren ADAMTS13-Defizienz für die Diagnose der TTP untermauert (Bianchi et al. 2002).

Eine kürzliche Studie aus Japan fand allerdings eine schwer verminderte ADAMTS13-Aktivität bei 17 von 109

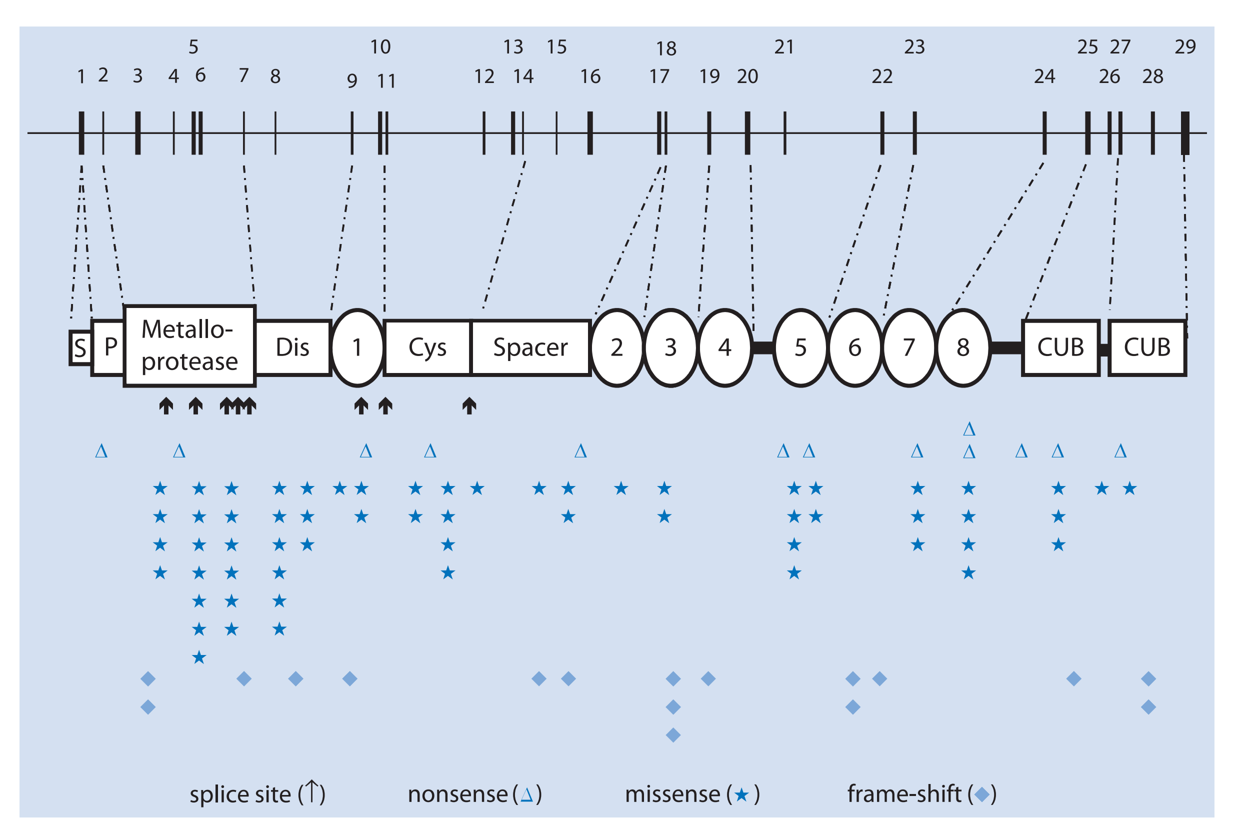



**Abb. 34.2.** Genstruktur, Proteindomänen und bisher identifizierte Mutationen des ADAMTS13-Gens bei Patienten mit Upshaw-Schulman-Syndrom. Das ADAMTS13-Gen (oben) besteht aus 29 Exonen, die das ADAMTS13-Protein (Mitte) kodieren: Signalpeptid (*S*), Propeptid (*P*), Metalloproteasedomäne, Disintegrin-Domäne (*Dis*), 8 Thrombospondin-Typ-1-Domänen (*1–8*), cysteinreiche (*Cys*) und Spacer-Domäne (*Spacer*) und 2 CUB-Domänen. Bis Ende 2008 wurden über 90 Mutationen (unten) entdeckt, deren Wirkung auf das Genprodukt erst bei einem Teil der Mutationen geklärt wurde: Splice-Site-Mutationen (↑), Nonsense-Mutationen (Δ), Missense-Mutationen (★), Frame-Shift-Mutationen (◆)

Patienten mit sepsisbedingter disseminierter intravasaler Gerinnung (DIC; Ono et al. 2006), während 2 andere Studien bei Sepsispatienten lediglich mäßig verminderte Werte (nie <24% des Normalplasmas) berichteten (Martin et al. 2007; Kremer Hovinga et al. 2007).

**! Somit scheint die schwer verminderte ADAMTS13-Aktivität (<5%) ein spezifischer Befund für eine thrombotische Mikroangiopathie zu sein, die in aller Regel klinisch als TTP und in seltenen Fällen als atypisches (D-) HUS diagnostiziert wird (Remuzzi et al. 2002; Veyradier et al. 2003).**

Andererseits zeigten mehrere Autoren (Furlan et al. 1998a; Tsai u. Lian 1998; Veyradier et al. 2001; Mori et al. 2002; Vesely et al. 2003; Matsumoto et al. 2004b; Kremer Hovinga et al. 2004a; Zheng et al. 2004; Peyvandi et al. 2004) meist in retrospektiven multizentrischen Studien, dass nicht alle Patienten mit klinisch diagnostizierter akuter TTP eine schwere ADAMTS13-Defizienz, erfasst mittels statischer Aktivitätsmessung, aufweisen (Tab. 34.1, nach Lämmle et al. 2005).

Lediglich ca. 60% zeigen eine Aktivität von weniger als 5–10% des Normalplasmas, wobei nicht auszuschließen ist, dass in einigen Fällen eine Plasmabehandlung vor der ersten Blutentnahme erfolgte, was den Prozentsatz der Patienten mit schwerem ADAMTS13-Mangel eventuell etwas verringert haben könnte. Trotzdem stellt sich die Frage, ob bei Patienten mit TTP ohne schwere ADAMTS13-Defizienz eine andere Pathophysiologie zugrunde liegt. Dies scheint durchaus möglich, da die klinischen und labormäßigen Kriterien der TTP (konsumptive Thrombozytopenie, mikroangiopathische Hämolyse mit Fragmentozyten, erhöhte LDH, mit oder ohne Organischämien mit neurologischen, renalen und anderen Dysfunktionen und Fieber) nicht sehr spezifisch sind und deshalb auch andere Pathomechanismen zu ähnlichen Symptomen und Befunden führen können (George 2000). Alternativ ist auch denkbar, dass die zurzeit üblichen statischen Messmethoden der ADAMTS13-Aktivität die physiologische In-vivo-Funktion dieser Metalloprotease nicht vollständig erfassen.

**Tab. 34.1.** Anteil der TTP-Patienten mit schwerer ADAMTS13-Defizienz (definiert als <5% des Normalplasmas bzw. <10% bei Peyvandi et al. [2004])

| Referenz | Studienaufbau | Schwere Defizienz / Gesamtanzahl Patienten* | Sensitivität (%) |
|---|---|---|---|
| Furlan et al. 1998 | Retrospektiv, multizentrisch | 26/30[a] | 86 |
| Tsai u. Lian 1998 | Retrospektiv | 37/37[a] | 100 |
| Veyradier et al. 2001 | Prospektiv, multizentrisch | 47/66[a] | 71 |
| Mori et al. 2002 | Retrospektiv | 12/18[a] | 66 |
| Vesely et al. 2003 | Prospektiv, 1 Zentrum | 16/48[b] | 33 |
| Matsumoto et al. 2004b | Multizentrisch | 56/108[b] | 52 |
| Kremer Hovinga et al. 2004a | Multizentrisch | 56/93[c] | 60 |
| Zheng et al. 2004 | Prospektiv, 1 Zentrum | 16/20[a] | 80 |
| Peyvandi et al. 2004 | Multizentrisch | 48/100[a] | 48 |

* Der Nenner bezieht sich auf die Patienten mit der Diagnose [a]einer akuten TTP, [b]einer idiopathischen TTP, [c]einer ersten oder rezidivierenden idiopathischen TTP



ADAMTS13 spaltet die neu synthetisierten ULvWF-Multimere auf der Endotheloberfläche der Mikrozirkulation unter hohen Scherkraftbedingungen (Dong et al. 2002; Lopez u. Dong 2004). Präliminäre Daten suggerieren, dass zumindest einige Patienten mit TTP und nachgewiesenen Autoantikörpern gegen ADAMTS13 in statischen Assays eine normale Proteaseaktivität aufweisen, jedoch eine schwere ADAMTS13-Defizienz in einer Flow-basierten Messmethode (Kremer Hovinga et al. 2006b). Ebenfalls wurde berichtet, dass Zytokine wie Tumornekrosefaktor-α (TNF-α) und Interleukin-8 die Freisetzung von ULvWF-Multimeren stimulieren und Interleukin-6 die ADAMTS13-Aktivität in Flow-basierten Assays, jedoch nicht in statischen Assays, hemmt (Bernardo et al. 2004). Als mögliches klinisches Korrelat identifizierten wir 5 Patienten, die eine akute TMA im Gefolge einer akuten Pankreatitis entwickelten, wobei 2 Patienten eine normale statische ADAMTS13-Aktivität, 2 weitere einen schweren antikörpervermittelten Mangel aufwiesen (Swisher et al. 2007).

**! Somit scheint bei einer Mehrheit der Fälle von erworbener TTP die fehlende proteolytische Prozessierung der ULvWF-Multimere durch eine gehemmte ADAMTS13-Aktivität ein wesentlicher Pathomechanismus zu sein (Moake 2002; Lämmle et al. 2005).**

Die im Plasma vorhandenen, extrem adhäsiven ULVWF-Multimere zeigen aktivierte A1-Domänen der vWF-Untereinheiten (Hulstein et al. 2005), welche mit hoher Affinität an das Glykoprotein Ib der Thrombozyten binden und eine Thrombozytenaktivierung und -verklumpung in der Mikrozirkulation herbeiführen. Da eine schwere ADAMTS13-Defizienz aber über Jahre ohne akute Krankheitsmanifestation bestehen kann (Furlan u. Lämmle 2001; Kremer Hovinga et al. 2004a) und nicht alle Patienten mit einer akuten idiopathischen TTP eine schwere ADAMTS13-Defizienz aufweisen (Tab. 34.1), ist anzunehmen, dass einerseits zusätzliche Trigger für den Krankheitsausbruch nötig sind und andererseits alternative Pathomechanismen in der Entstehung der TTP eine Rolle spielen können.

## Typisches und atypisches hämolytisch-urämisches Syndrom

**Definition**

Das HUS wird traditionell als klinische Triade mit mikroangiopathischer Hämolyse, Thrombozytopenie und akutem Nierenversagen definiert.

Das häufigere typische, mit Diarrhoe assoziierte (D+) HUS tritt im Gefolge einer hämorrhagischen Kolitis, verursacht durch Verozytotoxin produzierende enterohämorrhagische Bakterien (v. a. Escherichia coli vom Serotyp O157:H7) auf. Betroffen sind v. a. Kinder und ältere Erwachsene, gelegentlich zeigt die Krankheit epidemischen Charakter (Moake 2002; Furlan u. Lämmle 2001; Griffin u. Tauxe 1991; Dundas et al. 1999).

In den letzten Jahren häufen sich Berichte, dass zahlreiche Patienten, deren akute TMA als atypisches (D-) HUS diagnostiziert wurde, eine defekte Regulation des alternativen Komplementaktivierungswegs aufweisen (Kavanagh u. Goodship 2007; Warwicker et al. 1998; Atkinson et al. 2005; Abb. 34.3).

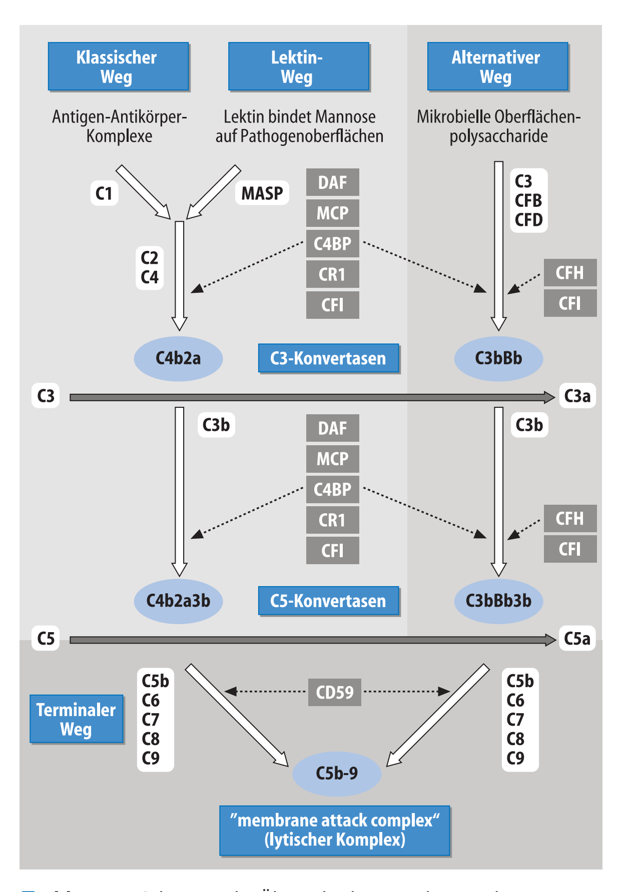



**Abb. 34.3.** Schematische Übersicht der Komplementaktivierung und -regulation. Die 3 Aktivierungswege (klassischer Weg, Lektin-Weg [»mannose-binding lectin«], alternativer Weg) und gemeinsamer terminaler Weg der Komplementaktivierung sind mit offenen Pfeilen dargestellt. Die grauen Boxen zeigen die regulierenden Proteine der Komplementaktivierung, die gestrichelten Pfeile zeigen deren regulierende Wirkung. *C1–C9* Komplementproteine C1–C9; *C3bBb* alternative C3-Konvertase; *C3bBb3b* alternative C5-Konvertase; *C4BP* »C4b-binding protein«; *CFB* Komplementfaktor B; *CFD* Komplementfaktor D; *CFH* Komplementfaktor H; *CFI* Komplementfaktor I; *CR1* Komplementrezeptor 1; *DAF* »decay accelerating factor«; *MASP* »mannose-binding lectin«-aktivierte Serinproteasen; *MCP* »membrane cofactor protein«

Der alternative Weg der Komplementaktivierung wird durch die kovalente Bindung von C3b an Pathogene und veränderte Gewebestrukturen aktiviert und führt zur Bildung der alternativen C3-Konvertase (C3bBb) und C5-Konvertase (C3bBb3b) (Kavanagh u. Goodship 2007). Dies resultiert in der Generation von C3a und C5a und der Aktivierung des terminalen lytischen »membrane-attack-complex« (C5b-9). Verminderte Serumspiegel von C3 und C3-Ablagerung in den Glomeruli und Arteriolen der Niere beim atypischen HUS suggerieren die pathophysiologische Bedeutung einer übermäßigen Komplementaktivierung (Kavanagh u. Goodship 2007; Warwicker et al. 1998; Atkinson et al. 2005). Mehrere Serum- und Membranproteine regulieren die (und schützen vor übermäßiger) Komplementaktivierung, einerseits durch proteolytische Inaktivierung von C3b und C4b (Kofaktoraktivität), andererseits durch die Dissoziation der Multikomponenten C3- und C5-Konvertasen (»decay acceleration activity«).

Mutationen im regulatorischen Komplementfaktor H (CFH) wurden 1998 von Warwicker et al. bei Patienten mit atypischem HUS beschrieben (Warwicker et al. 1998), und die Untersuchung größerer Kohorten ergab – meist heterozygote – CFH-Mutationen bei 15–30% der Patienten (Kavanagh u. Goodship 2007). Die Mehrheit dieser Mutationen betrifft den C-terminalen Bereich des CFH-Proteins, was dessen Bindung an Endothelzellen und Glykosaminoglykane hemmt und eine defekte Regulation der Komplementaktivierung auf der Zelloberfläche bewirkt. Eine komplette CFH-Defizienz führt zum Bild einer membranoproliferativen Glomerulonephritis Typ II (Dragon et al. 2005).

Ein transgenes Mausmodell mit C-terminal verkürztem CFH zeigte eine erhaltene Regulation der C3-Aktivierung im Plasma, jedoch eine fehlende Regulation auf der Zelloberfläche und führte wie bei Patienten mit C-terminalen CFH-Mutationen zum Bild des atypischen HUS. In einigen Fällen von atypischem HUS wurden auch Autoantikörper gegen CFH, welche die Komplementregulation beeinträchtigen, beschrieben (Kavanagh u. Goodship 2007; Dragon et al. 2005).

Ferner wurden in den letzten Jahren Mutationen in anderen komplementregulierenden Proteinen gefunden, nämlich im zellulären Transmembranprotein »membrane cofactor protein« (MCP), im Komplementfaktor I (CFI) und den sog. »factor H related genes« (CFHR1 und CFHR3). Mutationen von MCP und CFI finden sich bei 10–13% bzw. 5–12% der bisher untersuchten Patienten (Kavanagh u. Goodship 2007). Schließlich wurde kürzlich auch über eine »Gain-of-Function«-Mutation im Komplement-aktivierenden Protein, Komplementfaktor B (CFB), dem Zymogen der alternativen C3-und C5-Konvertase (C3bBb bzw. C3bBb3b) bei 2 Familien mit atypischem HUS berichtet (Goicoechea et al. 2007).

Mutationen, die zu einer übermäßigen Komplementaktivierung führen, scheinen somit in der Pathogenese des atypischen HUS eine wesentliche Rolle zu spielen, wobei eine Kombination von Mutationen bzw. von »Single-Nucleotide-Polymorphismen« das Erkrankungsrisiko wahrscheinlich erhöht.

**! In Analogie zur hereditären und akquirierten TTP mit konstitutionellem bzw. erworbenem schweren ADAMTS13-Mangel sind häufig exogene Trigger wie Infekte oder Schwangerschaft nötig, um eine manifeste Erkrankung auszulösen (Kavanagh u. Goodship 2007).**

### Andere thrombotische Mikroangiopathien

Die Pathophysiologie der tumorassoziierten thrombotischen Mikroangiopathie (TMA), der TMA nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation oder nach Mitomycin-C-Behandlung ist weitgehend unbekannt. In diesen Fällen findet sich in aller Regel keine schwere ADAMTS13-Defizienz (Vesely et al. 2003; Matsumoto et al. 2004b; Kremer Hovinga et al. 2004a; Zheng et al. 2004), und es wird vermutet, dass ein Endothelschaden ursächlich im Vordergrund steht.

Patienten mit ticlopidinassoziierter TMA (Bennett et al. 1998) zeigten in einigen Fällen eine schwere autoantikörpervermittelte ADAMTS13-Defizienz (Tsai et al. 2000), ebenso vereinzelte Fälle mit HIV-assoziierter TMA (Gunther et al. 2007). Beim HELLP-Syndrom wurde ein erhöhter vWF-Spiegel mit erhöhtem vWF-Propeptid und aktivierter GP-Ib-bindender A1-Domäne des VWF beschrieben, allerdings bei nur leicht reduzierter oder normaler ADAMTS13-Aktivität (Hulstein et al. 2006).

## 34.1.3 Klinik und Diagnostik

Patienten mit akutem TTP-Schub sind in der Regel schwer krank. Nicht alle Patienten zeigen das Vollbild der diagnostischen Pentade (George 2000; Furlan u. Lämmle 2001):

- mikroangiopathische Hämolyse,
- Thrombozytopenie,
- neurologische Befunde,
- Nierendysfunktion,
- Fieber.

**Cave**

Problematisch ist, dass die Diagnose schnell gestellt werden muss, da die Mortalität ohne Plasmatherapie bei über 90% liegt (Amorosi u. Ultmann 1966; George 2000).

Es besteht weitgehende Einigkeit, dass eine TTP beim Vorliegen einer mikroangiopathischen Hämolyse und Thrombozytopenie, welche nicht anders erklärt werden können, diagnostiziert werden muss. Andererseits ist zu beachten, dass neben Gehirn und Niere auch andere Organe wie Myokard oder Pankreas eine ischämische Dysfunktion zeigen können (Ruggenenti u. Remuzzi 1996; Moake u. Chow 1998; Furlan u. Lämmle 2001).

An Laborbefunden fallen neben einer Coombs-negativen hämolytischen Anämie mit Retikulozytose, Fragmentozyten im Blutbild und Thrombozytopenie eine deutlich erhöhte Lactatdehydrogenase (LDH) als Folge der intravasalen Hämolyse und Ischämie diverser Organe auf sowie ein meist nur leicht erhöhtes Kreatinin. In der Regel wird keine Histologie betroffener Organe gewonnen, da Biopsien bei den schwer kranken Patienten mit oft ausgeprägter Thrombozytopenie zu gefährlich erscheinen. Immunhistochemisch wurden bei einzelnen TTP-Patienten Thrombozyten- und vWF-reiche Thromben in der Mikrozirkulation beschrieben (Asada et al. 1985; Hosler et al. 2003), während die Mikrothromben bei typischem (D+) HUS vorwiegend aus Fibrin bestehen sollen (Hosler et al. 2003; Tsai et al. 2001). Beim D+ HUS wurden erhöhte Gerinnungsaktivierungsmarker wie Prothrombinfragment F1+2 gemessen (Chandler et al. 2002), allerdings auch bei Patienten mit TTP (Takahashi et al. 1989).

Die Bestimmung der ADAMTS13-Aktivität mittels vWF-Multimer-Degradation, gefolgt von SDS-Agarosegelelektrophorese und Immunoblotting (Furlan et al. 1996; Furlan et al. 1998a) oder SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese und Immunoblotting (Tsai 1996, Tsai u. Lian 1998), sowie anderen Methoden (Übersicht bei Lämmle et al. 2005) war bis vor kurzem speziellen Forschungslaboratorien vorbehalten. Die Entwicklung eines fluorogenen vWF-Peptids (FRETS-VWF73; Kokame et al. 2005) erlaubt demgegenüber die Messung der ADAMTS13-Aktivität innerhalb einer Stunde mittels »fluorescence resonance energy transfer system« (FRETS), und die mit dieser Technik gemessenen Werte scheinen in der Regel gut mit denen der komplexeren initialen Methoden übereinzustimmen (Kremer Hovinga et al. 2006a).

Eine ADAMTS13-Aktivität von unter 5–10% beweist die Diagnose einer TTP, höhere und auch normale Werte erlauben es allerdings nicht, die Diagnose auszuschließen. Bei stark verminderter Aktivität wird das hitzeinaktivierte Patientenplasma mit einem gleichen Volumen Normalplasma gemischt, und die Hemmung der ADAMTS13-Aktivität im Normalplasma zeigt das Vorhandensein eines zirkulierenden Inhibitors, meist ein IgG, was eine erworbene TTP beweist. Ebenfalls sind vor kurzem ELISA-Methoden zum Nachweis von Anti-ADAMTS13-Autoantikörpern und zur Messung des ADAMTS13-Antigens entwickelt worden, deren Validierung allerdings noch aussteht. Ein endothelzellabhängiger Flow-basierter ADAMTS13-Aktivitätsassay (Dong et al. 2002; Lopez u. Dong 2004) ist als Forschungsmethode von hohem Interesse, jedoch für die Routinediagnostik zu aufwendig, zu störanfällig und deshalb nicht geeignet.

Aufgrund der Anamnese, den klinischen und Laborbefunden scheint die Diagnose eines typischen HUS relativ einfach. Die klinische Differenzierung zwischen idiopathischer TTP und atypischem HUS ist hingegen bei Präsentation des Patienten oft schwierig oder unmöglich (George 2000, 2006). Dennoch scheint es, dass Kliniker oft in der Lage sind, mindestens im Verlauf der Krankheit eine Differenzierung zu machen: Keine einzige von 120 Plasmaproben von Patienten mit der klinischen Diagnose eines

HUS, die unserem Labor zur Analyse zugesandt wurden, zeigte einen schweren ADAMTS13-Mangel, allerdings auch nur 60% der 93 Plasmen von Patienten mit der Diagnose einer akuten idiopathischen TTP (Kremer Hovinga et al. 2004a).

Besonders wichtig im Krankheitsverlauf ist die Differenzierung zwischen der selteneren hereditären und häufigeren erworbenen TTP. Bei sehr raschem Ansprechen auf die Plasmatherapie (▶ Kap. 34.1.4) muss eine hereditäre TTP mit konstitutioneller schwerer ADAMTS13-Defizienz erwogen, gesucht und möglichst mittels genetischer Analyse des ADAMTS13-Gens bestätigt werden. Wahrscheinlich ist es ebenso angezeigt, bei Patienten mit der Präsentation als atypisches HUS eine Suche nach Mutationen der komplementregulierenden Proteine durchzuführen. Zurzeit bieten allerdings nur wenige Speziallaboratorien diese genetischen Analysen der ADAMTS13 und der Komplementregulatoren an.

### 34.1.4 Therapie und Verlauf

Die Therapie der TTP wurde in mehreren Übersichtsartikeln beleuchtet (Moake 2002; Lämmle et al. 2005; George 2000; Rock 2000; Fontana et al. 2004), und Richtlinien des British Committee for the Standardisation in Haematology (Allford et al. 2003) wurden publiziert. Die diesen Richtlinien zugrunde liegende Evidenz ist allerdings meist schwach.

#### Akuter Krankheitsverlauf

Die dramatische Reduktion der Mortalität von >90% auf ca. 20% durch die empirische Einführung der Plasmapheresetherapie mit Ersatz durch FFP (Byrnes et al. 1977) in den 1970er-Jahren ist dermaßen überzeugend, dass sich eine prospektive Studie mit einer Kontrollgruppe ohne Plasmatherapie aus ethischen Gründen verbietet.

Die Canadian Apheresis Study Group zeigte 1991 in einer prospektiven randomisierten Studie, dass die Plasmapheresebehandlung mit Austausch von 1,5 Plasmavolumina täglich über 3 Tage, gefolgt von Austausch eines Plasmavolumens täglich mit jeweiligem Ersatz durch FFP der alleinigen Infusion von FFP überlegen ist (Ansprechen nach dem ersten Behandlungszyklus von 47% und nach 6 Monaten von 78% mit Plasmaaustausch versus 25% und 49% mit alleiniger Plasmainfusion, Mortalität von 22 versus 37%; Rock et al. 1991).

Glukokortikosteroide werden häufig gleichzeitig verabreicht und wurden bei milderen Krankheitsfällen anscheinend mit Erfolg gelegentlich alleine verwendet (Bell et al. 1991).

**! Die pathophysiologische Basis für die Wirksamkeit dieser empirisch eingeführten, heutigen Standardtherapie (tägliche Plasmapheresen mit FFP-Ersatz mit oder ohne Prednison) scheint heute evident: Entfernung der Anti-ADAMTS13-Autoantikörper durch Plasmapherese, Zufuhr von ADAMTS13 mittels FFP sowie Suppression der Autoantikörperproduktion durch Steroide.**

Plasmarefraktäre Patienten oder Patienten mit frühen Rezidiven werden oft mit intensivierter, z. B. 2-mal täglicher Plasmapherese behandelt (Nguyen et al. 2008). Die Splenektomie ist bei plasmarefraktären Fällen oft wirksam (Kremer Hovinga et al. 2004b) und vermindert bei chronisch rezidivierenden Fällen die Rezidivfrequenz (Kappers-Klunne et al. 2005), wahrscheinlich durch die Elimination Autoantikörper produzierender B-Zellen (Furlan et al. 1998b; Kremer Hovinga et al. 2004b). In den letzten Jahren wurde der chimäre monoklonale Anti-CD20-Antikörper Rituximab bei mehreren Patienten mit plasmarefraktärer oder häufig rezidivierender TTP mit offensichtlich gutem Erfolg verwendet (Fakhouri et al. 2005; Scully et al. 2007; Rüfer et al. 2007). Prospektive Studien zu dessen Langzeiterfolg sind geplant.

Eine gewisse Kontroverse besteht, ob Patienten mit klinisch diagnostizierter TTP ohne schwere erworbene ADAMTS13-Defizienz ebenfalls einer Plasmapheresetherapie unterzogen werden müssen. Hier ist zu bedenken, dass die oben erwähnte kanadische Studie (Rock et al. 1991) die Wirksamkeit des Plasmaaustauschs 6 Jahre vor der Entdeckung der pathophysiologischen Bedeutung der ADAMTS13-Defizienz nachgewiesen hat.

Einige der in ◘ Tab. 34.1 aufgeführten Studien liefern genügend Details, um das Therapieansprechen bei Patienten mit und ohne schweren ADAMTS13-Mangel zu vergleichen. Mori und Mitarbeiter (2002) berichten, dass nur 2 von 12 Patienten mit, aber 4 von 6 ohne schwere ADAMTS13-Defizienz unter Plasmapherese und Steroidtherapie verstarben. Sie schließen daraus, dass die Plasmapheresetherapie bei Patienten ohne schweren ADAMTS13-Mangel möglicherweise keine ideale Behandlung darstelle (Mori et al. 2002).

Demgegenüber zeigen Daten aus dem Oklahoma TTP-HUS Registry, dass unter den 48 Patienten mit idiopathischer TTP das Ansprechen auf die Plasmaaustauschbehandlung bei den 16 Patienten mit schwerer erworbener ADAMTS13-Defizienz gleich gut schien wie bei den 32 Patienten ohne schweren Mangel. Auch die Mortalität war nicht unterschiedlich, hingegen zeigten Patienten mit initialer autoantikörperinduzierter schwerer ADAMTS13-Defizienz viel häufiger im Verlauf Rezidive als Patienten ohne schweren ADAMTS13-Mangel (Vesely et al. 2003).

Ähnliche Resultate berichten Zheng und Mitarbeiter (2004). Von 20 Patienten mit idiopathischer TTP hatten 16 einen schweren ADAMTS13-Mangel und 3 der 16 Patienten

verstarben im akuten TTP-Schub. Keiner der 4 Patienten ohne schwere Verminderung der ADAMTS13 verstarb. Eine viel höhere Mortalität (10 von 17 Patienten) fanden diese Autoren bei sekundärer TMA assoziiert mit hämatopoetischer Stammzelltransplantation, Neoplasie oder antineoplastischer Chemotherapie. Keiner dieser 17 Patienten hatte eine schwere ADAMTS13-Verminderung (Zheng et al. 2004).

> **! Aus den vorliegenden Daten ergibt sich, dass derzeit eine Plasmapheresebehandlung mit FFP-Ersatz unabhängig vom Vorliegen oder Fehlen eines schweren Mangels der ADAMTS13 bei idiopathischer TTP klar indiziert ist.**

### Rezidive

Patienten, die einen akuten Schub einer erworbenen TTP überleben, haben ein hohes Risiko, in den folgenden Monaten bis Jahren ein TTP-Rezidiv zu erleiden (Vesely et al. 2003; Kappers-Klunne et al. 2005; Shumak et al. 1995). Dies betrifft v. a. Patienten, die initial eine schwere autoimmune ADAMTS13-Defizienz zeigen (Vesely et al. 2003).

> **! Die Rezidivrate bei Patienten mit chronisch rezidivierender TTP kann durch die Splenektomie deutlich reduziert werden (Kappers-Klunne et al. 2005).**

Eine retrospektive Studie mit 109 Patienten zeigte, dass die Persistenz oder das Wiederauftreten eines schweren ADAMTS13-Mangels und/oder der Autoantikörper gegen ADAMTS13 nach Remission des akuten TTP-Schubs das Rezidivrisiko erhöhen (Peyvandi et al. 2008). Bei einer Krankheit mit einem Rezidivrisiko von etwa 50% und einer Mortalitätsrate im akuten Schub von 20% ist eine prospektive Studie mit regelmäßigen Blutentnahmen zu fixierten Zeitpunkten nach Erreichen einer Remission dringend notwendig, um einerseits die prädiktive Aussagekraft der Bestimmung der ADAMTS13-Aktivität und der Autoantikörper gegen die Protease zu klären und andererseits den Nutzen einer Intervention zur Rezidivprophylaxe, z. B. mittels Splenektomie, Kortikosteroidtherapie oder Rituximabapplikation, zu evaluieren.

Von großer praktischer Relevanz für das Management eines Patienten ist das Erkennen einer hereditären TTP. Diese Patienten erleiden, sobald sie einen ersten Krankheitsschub durchgemacht haben, ebenfalls häufige Rezidive (Furlan u. Lämmle 2001). Generell sprechen Patienten mit konstitutioneller ADAMTS13-Defizienz schnell auf die Plasmatherapie an (Furlan u. Lämmle 2001; Upshaw 1978; Kinoshita et al. 2001), und die regelmäßige, z. B. 2- bis 3-wöchentliche Infusion von 1–2 Einheiten FFP kann Rezidive über viele Jahre vollständig verhindern (Barbot et al. 2001). Es ist dringend notwendig, dass diese oft tödliche aber gut behandelbare Krankheit, deren Inzidenz und Prävalenz wahrscheinlich stark unterschätzt wird, von Pädiatern und Internisten erkannt wird, um unnütze Therapien und vorzeitige Todesfälle zu vermeiden (Furlan u. Lämmle 2001; Studt et al. 2003, 2005; Schneppenheim et al. 2003; 2006).

### HUS

Kinder mit typischem (D+) HUS werden generell supportiv behandelt, und oft ist eine vorübergehende Dialysebehandlung notwendig. Eine Plasmaaustauschbehandlung zeigt keinen Vorteil (Allford et al. 2003) und die Prognose ist allgemein gut, in vielen Fällen mit Erholung der Nierenfunktion. In einer Kohorte von älteren Pflegeheimbewohner mit (D+) HUS wurden 16 von 22 Patienten mit Plasmapheresetherapie und FFP-Ersatz behandelt, allerdings ohne sicher nachweisbaren positiven Effekt (Dundas et al. 1999). Ob eine antikoagulatorische Therapie beim (D+) HUS, wo eine deutliche Gerinnungsaktivierung vorzuliegen scheint (Chandler et al. 2002), von Nutzen ist, muss weiter untersucht werden.

Patienten mit atypischem (D-) HUS werden in der Regel mittels Plasmapherese und gleichzeitiger Dialyse behandelt. Die Prognose des atypischen HUS ist ungünstig mit einer Mortalität von bis zu 25% in der akuten Phase. Etwa die Hälfte der Patienten entwickelt eine persistierende terminale Niereninsuffizienz mit notwendiger Dauerdialyse. Neue Daten sprechen dafür, dass Patienten mit atypischem HUS und CFH-Mutationen eine deutlich schlechtere Prognose haben als jene mit MCP-Mutationen, da ca. 70% der ersteren aber weniger als 20% der letzteren eine terminale dialysepflichtige Niereninsuffizienz entwickeln (Kavanagh u. Goodship 2007).

Die genetische Testung auf Mutationen der Komplementproteine dürfte für diejenigen Patienten wichtig sein, bei denen eine Nierentransplantation erwogen wird. Bei Patienten mit Mutationen der Serumkomplementregulatoren CFH und CFI scheint die Rezidivrate nach Nierentransplantation >80%, während Patienten mit einer Mutation des Transmembranproteins MCP eine viel bessere Überlebenschance der Transplantatniere aufweisen, da diese in der Regel ein funktionell intaktes MCP aufweist (Kavanagh u. Goodship 2007).

### Andere TMA

Eine wirksame Therapie für TMA nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation oder bei disseminierten Neoplasien ist nicht bekannt. Gelegentlich wird eine Plasmaaustauschbehandlung vorgenommen, doch ist die Mortalität in schweren Fällen sehr hoch, wobei die Patienten entweder an der thrombotischen Mikroangiopathie oder ihrem Grundleiden versterben.

## 34.1.5 Ausblick

In den letzten 12 Jahren wurden wesentliche neue Erkenntnisse zur Pathophysiologie der seltenen Erkrankungen TTP

und atypisches HUS gewonnen. Die jährliche Inzidenz sämtlicher TTP-HUS-Verdachtsfälle wurde mit 11 pro 1 Mio. in der Bevölkerung beziffert. Die Inzidenz der sich im Hospitalisationsverlauf als idiopathische TTP-HUS herausstellenden Fälle beträgt 4,5 pro 1 Mio., und jene der Fälle mit schwerer erworbener ADAMTS13-Defizienz 1,7 pro 1 Mio. (Terrell et al. 2005).

Um bei diesen seltenen idiopathischen thrombotischen Mikroangiopathien die vielen offenen Fragen zu den Pathomechanismen weiter zu klären und zur Differenzierung von TTP und atypischem HUS beizutragen, sind multizentrische prospektive Studien unabdingbar. Diese sind auch nötig, um die Therapie dieser TMA weiter zu optimieren und die auch heute noch hohe Mortalität zu reduzieren.

## Literatur


Allford SL, Hunt BJ, Rose P, Machin SJ (2003) Guidelines on the diagnosis and management of the thrombotic microangiopathic haemolytic anaemias. Br J Haematol 120(4): 556–73

Amorosi EL, Ultmann JE (1966) Thrombotic thrombocytopenic purpura: report of 16 cases and review of the literature. Medicine (Baltimore) 45: 139–159

Asada Y, Sumiyoshi A, Hayashi T, Suzumiya J, Kaketani K (1985) Immunohistochemistry of vascular lesion in thrombotic thrombocytopenic purpura, with special reference to factor VIII related antigen. Thromb Res 38(5): 469–79

Atkinson JP, Liszewski MK, Richards A, Kavanagh D, Moulton EA (2005) Hemolytic uremic syndrome: an example of insufficient complement regulation on self-tissue. Ann N Y Acad Sci 1056: 144–52

Banno F, Kokame K, Okuda T, Honda S, Miyata S, Kato H, Tomiyama Y, Miyata T (2006) Complete deficiency in ADAMTS13 is prothrombotic, but it alone is not sufficient to cause thrombotic thrombocytopenic purpura. Blood 107(8): 3161–6

Barbot J, Costa E, Guerra M et al. (2001) Ten years of prophylactic treatment with fresh-frozen plasma in a child with chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura as a result of a congenital deficiency of von Willebrand factor-cleaving protease. Br J Haematol 113(3): 649–51

Bell WR, Braine HG, Ness PM, Kickler TS (1991) Improved survival in thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. Clinical experience in 108 patients. N Engl J Med 325(6): 398–403

Bennett CL, Weinberg PD, Rozenberg-Ben-Dror K, Yarnold PR, Kwaan HC, Green D (1998) Thrombotic thrombocytopenic purpura associated with ticlopidine. A review of 60 cases. Ann Intern Med 128(7): 541–4

Bernardo A, Ball C, Nolasco L, Moake JF, Dong JF (2004) Effects of inflammatory cytokines on the release and cleavage of the endothelial cell-derived ultralarge von Willebrand factor multimers under flow. Blood 104(1): 100–6

Bianchi V, Robles R, Alberio L, Furlan M, Lämmle B (2002) Von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13) in thrombocytopenic disorders: a severely deficient activity is specific for thrombotic thrombocytopenic purpura. Blood 100(2): 710–3

Byrnes JJ, Khurana M (1977) Treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura with plasma. N Engl J Med 297(25): 1386–9

Chandler WL, Jelacic S, Boster DR, Ciol MA, Williams GD, Watkins SL, Igarashi T, Tarr PI (2002) Prothrombotic coagulation abnormalities preceding the hemolytic-uremic syndrome. N Engl J Med 346(1): 23–32

Dent JA, Berkowitz SD, Ware J, Kasper CK, Ruggeri ZM (1990) Identification of a cleavage site directing the immunochemical detection of molecular abnormalities in type IIA von Willebrand factor. Proc Natl Acad Sci U S A 87(16): 6306–10

Donadelli R, Banterla F, Galbusera M et al. (2006) In-vitro and in-vivo consequences of mutations in the von Willebrand factor cleaving protease ADAMTS13 in thrombotic thrombocytopenic purpura. Thromb Haemost 96(4): 454–64

Dong JF, Moake JL, Nolasco L, Bernardo A, Arceneaux W, Shrimpton CN, Schade AJ, McIntire LV, Fujikawa K, Lopez JA (2002) ADAMTS-13 rapidly cleaves newly secreted ultralarge von Willebrand factor multimers on the endothelial surface under flowing conditions. Blood 100(12): 4033–9

Dragon-Durey MA, Fremeaux-Bacchi V et al. (2004) Heterozygous and homozygous factor h deficiencies associated with hemolytic uremic syndrome or membranoproliferative glomerulonephritis: report and genetic analysis of 16 cases. J Am Soc Nephrol 15(3): 787–95

Dragon-Durey MA, Loirat C, Cloarec S, Macher MA, Blouin J, Nivet H, Weiss L, Fridman WH, Fremeaux-Bacchi V (2005) Anti-Factor H autoantibodies associated with atypical hemolytic uremic syndrome. J Am Soc Nephrol 16(2): 555–63

Dundas S, Murphy J, Soutar RL, Jones GA, Hutchinson SJ, Todd WT (1999) Effectiveness of therapeutic plasma exchange in the 1996 Lanarkshire Escherichia coli O157: H7 outbreak. Lancet 354(9187): 1327–30

Fakhouri F, Vernant JP, Veyradier A et al. (2005) Efficiency of curative and prophylactic treatment with rituximab in ADAMTS13-deficient thrombotic thrombocytopenic purpura: a study of 11 cases. Blood 106(6): 1932–7

Fontana S, Kremer Hovinga JA, Studt JD, Alberio L, Lämmle B, Mansouri Taleghani B (2004) Plasma therapy in thrombotic thrombocytopenic purpura: review of the literature and the Bern experience in a subgroup of patients with severe acquired ADAMTS-13 deficiency. Semin Hematol 41(1): 48–59

Fujikawa K, Suzuki H, McMullen B, Chung D (2001) Purification of human von Willebrand factor-cleaving protease and its identification as a new member of the metalloproteinase family. Blood 98(6): 1662–6

Furlan M, Lämmle B (2001) Aetiology and pathogenesis of thrombotic thrombocytopenic purpura and haemolytic uraemic syndrome: the role of von Willebrand factor-cleaving protease. Best Pract Res Clin Haematol 14(2): 437–54

Furlan M, Robles R, Galbusera M et al. (1998a) Von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome. N Engl J Med 339(22): 1578–84

Furlan M, Robles R, Solenthaler M, Lämmle B (1998b) Acquired deficiency of von Willebrand factor-cleaving protease in a patient with thrombotic thrombocytopenic purpura. Blood 91(8): 2839–46

Furlan M, Robles R, Solenthaler M, Wassmer M, Sandoz P, Lämmle B (1997) Deficient activity of von Willebrand factor-cleaving protease in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. Blood 89(9): 3097–103

Furlan M, Robles R, Lämmle B (1996) Partial purification and characterization of a protease from human plasma cleaving von Willebrand factor to fragments produced by in vivo proteolysis. Blood 87(10): 4223–34

Gasser C, Gautier E, Steck A, Siebenmann RE, Oechslin R (1955) Hämolytisch-urämische Syndrome: bilaterale Nierenrindennekrosen bei akuten erworbenen hämolytischen Anämien. Schweiz Med Wochenschr 85: 905–909

George JN, Kremer Hovinga JA, Terrell DR, Vesely SK, Lämmle B (2008) The Oklahoma Thrombotic Thrombocytopenic Purpura-Hemolytic Uremic Syndrome Registry: the Swiss connection. Eur J Haematol 80(4): 277–86

George JN (2006) Clinical practice. Thrombotic thrombocytopenic purpura. N Engl J Med 354(18): 1927–35

George JN (2000) How I treat patients with thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. Blood 96(4): 1223–9

Gerritsen HE, Robles R, Lämmle B, Furlan M (2001) Partial amino acid sequence of purified von Willebrand factor-cleaving protease. Blood 98(6): 1654–61

Goicoechea de Jorge E, Harris CL, Esparza-Gordillo J et al. (2007) Gain-of-function mutations in complement factor B are associated with atypical hemolytic uremic syndrome. Proc Natl Acad Sci USA 104(1): 240–5

Griffin PM, Tauxe RV (1991) The epidemiology of infections caused by Escherichia coli O157: H7, other enterohemorrhagic E. coli, and the associated hemolytic uremic syndrome. Epidemiol Rev 13: 60–98

Gunther K, Garizio D, Nesara P (2007) ADAMTS13 activity and the presence of acquired inhibitors in human immunodeficiency virus-related thrombotic thrombocytopenic purpura. Transfusion 47(9): 1710–6

Hommais A, Rayes J, Houllier A, Obert B, Legendre P, Veyradier A, Girma JP, Ribba AS (2007) Molecular characterization of four ADAMTS13 mutations responsible for congenital thrombotic thrombocytopenic purpura (Upshaw-Schulman syndrome). Thromb Haemost 98(3): 593–9

Hosler GA, Cusumano AM, Hutchins GM (2003) Thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndrome are distinct pathologic entities. A review of 56 autopsy cases. Arch Pathol Lab Med 127(7): 834–9

Hulstein JJ, de Groot PG, Silence K, Veyradier A, Fijnheer R, Lenting PJ (2005) A novel nanobody that detects the gain-of-function phenotype of von Willebrand factor in ADAMTS13 deficiency and von Willebrand disease type 2B. Blood 106(9): 3035–42

Hulstein JJ, van Runnard Heimel PJ, Franx A, Lenting PJ, Bruinse HW, Silence K, de Groot PG, Fijnheer R (2006) Acute activation of the endothelium results in increased levels of active von Willebrand factor in hemolysis, elevated liver enzymes and low platelets (HELLP) syndrome. J Thromb Haemost 4(12): 2569–75

Kappers-Klunne MC, Wijermans P, Fijnheer R, Croockewit AJ, van der Holt B, de Wolf JT, Lowenberg B, Brand A (2005) Splenectomy for the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. Br J Haematol 130(5): 768–76

Kavanagh D, Goodship TH (2007) Update on evaluating complement in hemolytic uremic syndrome. Curr Opin Nephrol Hypertens 16(6): 565–71

Kinoshita S, Yoshioka A, Park YD et al. (2001) Upshaw-Schulman-Syndrome revisited: a concept of congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. Int J Hematol 74(1): 101–8

Kokame K, Nobe Y, Kokubo Y, Okayama A, Miyata T (2005) FRETS-VWF73, a first fluorogenic substrate for ADAMTS13 assay. Br J Haematol 129(1): 93–100

Kokame K, Matsumoto M, Soejima K et al. (2002) Mutations and common polymorphisms in ADAMTS13 gene responsible for von Willebrand factor-cleaving protease activity. Proc Natl Acad Sci USA 99(18): 11902–7

Kremer Hovinga JA, Zeerleder S, Kessler P et al. (2007) ADAMTS-13, von Willebrand factor and related parameters in severe sepsis and septic shock. J Thromb Haemost 5(11): 2284–90

Kremer Hovinga JA, Mottini M, Lämmle B (2006a) Measurement of ADAMTS-13 activity in plasma by the FRETS-VWF73 assay: comparison with other assay methods. J Thromb Haemost 4(5): 1146–8

Kremer Hovinga JA, Zahnd R, George JN et al. (2006b) Evidence for a pathophysiological role of anti-ADAMTS13 antibodies despite the presence of normal ADAMTS13 activity and presumption of an epitope spreading over time in recurrent thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP). In: 48th Annual Meeting of the American Society of Hematology 2006 Orlando, Florida: Blood 2006, Abstract #1067

Kremer Hovinga JA, Studt JD, Alberio L, Lämmle B (2004a) von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS-13) activity determination in the diagnosis of thrombotic microangiopathies: the Swiss experience. Semin Hematol 41(1): 75–82

Kremer Hovinga JA, Studt JD, Demarmels Biasiutti F et al. (2004b) Splenectomy in relapsing and plasma-refractory acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. Haematologica 89(3): 320–4

Lämmle B, Kremer Hovinga JA, Alberio L (2005) Thrombotic thrombocytopenic purpura. J Thromb Haemost 3(8): 1663–75

Laurence J, Mitra D, Steiner M, Staiano-Coico L, Jaffe E (1996) Plasma from patients with idiopathic and human immunodeficiency virus-associated thrombotic thrombocytopenic purpura induces apoptosis in microvascular endothelial cells. Blood 87(8): 3245–54

Levy GG, Nichols WC, Lian EC et al. (2001) Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. Nature 413(6855): 488–94

Lopez JA, Dong JF (2004) Cleavage of von Willebrand factor by ADAMTS-13 on endothelial cells. Semin Hematol 41(1): 15–23

Mannucci PM, Canciani MT, Forza I, Lussana F, Lattuada A, Rossi E (2001) Changes in health and disease of the metalloprotease that cleaves von Willebrand factor. Blood 98(9): 2730–5

Martin K, Borgel D, Lerolle N, Feys HB, Trinquart L, Vanhoorelbeke K, Deckmyn H, Legendre P, Diehl JL, Baruch D (2007) Decreased ADAMTS-13 (A disintegrin-like and metalloprotease with thrombospondin type 1 repeats) is associated with a poor prognosis in sepsis-induced organ failure. Crit Care Med 35(10): 2375–82

Matsumoto M, Kokame K, Soejima K et al. (2004a) Molecular characterization of ADAMTS13 gene mutations in Japanese patients with Upshaw-Schulman syndrome. Blood 103(4): 1305–10

Matsumoto M, Yagi H, Ishizashi H, Wada H, Fujimura Y (2004b) The Japanese experience with thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. Semin Hematol 41(1): 68–74

Moake JL (2002) Thrombotic microangiopathies. N Engl J Med 347(8): 589–600

Moake JL, Chow TW (1998) Thrombotic thrombocytopenic purpura: understanding a disease no longer rare. Am J Med Sci 316(2): 105–19

Moake JL, Rudy CK, Troll JH, Weinstein MJ, Colannino NM, Azocar J, Seder RH, Hong SL, Deykin D (1982) Unusually large plasma factor VIII: von Willebrand factor multimers in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. N Engl J Med 307(23): 1432–5

Moore JC, Hayward CP, Warkentin TE, Kelton JG (2001) Decreased von Willebrand factor protease activity associated with thrombocytopenic disorders. Blood 98(6): 1842–6

Mori Y, Wada H, Gabazza EC, Minami N, Nobori T, Shiku H, Yagi H, Ishizashi H, Matsumoto M, Fujimura Y (2002) Predicting response to plasma exchange in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura with measurement of vWF-cleaving protease activity. Transfusion 42(5): 572–80

Moschcowitz E (1924) Hyaline thrombosis of the terminal arterioles and capillaries: a hitherto undescribed disease. Proc N Y Pathol Soc 24: 21–24

Motto DG, Chauhan AK, Zhu G, Homeister J, Lamb CB, Desch KC, Zhang W, Tsai HM, Wagner DD, Ginsburg D (2005) Shigatoxin triggers thrombotic thrombocytopenic purpura in genetically susceptible ADAMTS13-deficient mice. J Clin Invest 115(10): 2752–61

Nguyen L, Li X, Duvall D, Terrell DR, Vesely SK, George JN (2008) Twice-daily plasma exchange for patients with refractory thrombotic thrombocytopenic purpura: the experience of the Oklahoma Registry, 1989 through 2006. Transfusion 48(2): 349–57

Ono T, Mimuro J, Madoiwa S, Soejima K, Kashiwakura Y, Ishiwata A, Takano K, Ohmori T, Sakata Y (2006) Severe secondary deficiency of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13) in patients with sepsis-induced disseminated intravascular coagulation: its correlation with development of renal failure. Blood 107(2): 528–34

Peyvandi F, Ferrari S, Lavoretano S, Canciani MT, Mannucci PM (2004) von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS-13) and ADAMTS-13 neutralizing autoantibodies in 100 patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. Br J Haematol 127(4): 433–9

Peyvandi F, Lavoretano S, Palla R et al. (2008) ADAMTS13 and anti-ADAMTS13 antibodies as markers for recurrence of acquired thrombotic thrombocytopenic purpura during remission. Haematologica 93(2): 232–9

Pimanda JE, Maekawa A, Wind T, Paxton J, Chesterman CN, Hogg PJ (2004) Congenital thrombotic thrombocytopenic purpura in association with a mutation in the second CUB domain of ADAMTS13. Blood 103(2): 627–9

Plaimauer B, Fuhrmann J, Mohr G, Wernhart W, Bruno K, Ferrari S, Konetschny C, Antoine G, Rieger M, Scheiflinger F (2006) Modulation of ADAMTS13 secretion and specific activity by a combination of common amino acid polymorphisms and a missense mutation. Blood 107(1): 118–25

Remuzzi G, Galbusera M, Noris M et al. (2002) von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS13) is deficient in recurrent and familial thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndrome. Blood 100(3): 778–85

Rock GA (2000) Management of thrombotic thrombocytopenic purpura. Br J Haematol 109(3): 496–507

Rock GA, Shumak KH, Buskard NA, Blanchette VS, Kelton JG, Nair RC, Spasoff RA (1991) Comparison of plasma exchange with plasma infusion in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. Canadian Apheresis Study Group. N Engl J Med 325(6): 393–7

Rüfer A, Brodmann D, Gregor M, Kremer Hovinga JA, Lämmle B, Wuillemin WA (2007) Rituximab for acute plasma-refractory thrombotic thrombocytopenic purpura. A case report and concise review of the literature. Swiss Med Wkly 137(37–38): 518–24

Ruggenenti P, Remuzzi G (1996) The pathophysiology and management of thrombotic thrombocytopenic purpura. Eur J Haematol 56(4): 191–207

Schneppenheim R, Kremer Hovinga JA, Becker T et al. (2006) A common origin of the 4143insA ADAMTS13 mutation. Thromb Haemost 96(1): 3–6

Schneppenheim R, Budde U, Hassenpflug W, Obser T (2004) Severe ADAMTS-13 deficiency in childhood. Semin Hematol 41(1): 83–9

Schneppenheim R, Budde U, Oyen F et al. (2003) Von Willebrand factor cleaving protease and ADAMTS13 mutations in childhood TTP. Blood 101(5): 1845–50

Schultz DR, Arnold PI, Jy W, Valant PA, Gruber J, Ahn YS, Mao FW, Mao WW, Horstman LL (1998) Anti-CD36 autoantibodies in thrombotic thrombocytopenic purpura and other thrombotic disorders: identification of an 85 kD form of CD36 as a target antigen. Br J Haematol 103(3): 849–57

Scully M, Cohen H, Cavenagh J, Benjamin S, Starke R, Killick S, Mackie I, Machin SJ (2007) Remission in acute refractory and relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura following rituximab is associated with a reduction in IgG antibodies to ADAMTS-13. Br J Haematol 136(3): 451–61

Shumak KH, Rock GA, Nair RC (1995) Late relapses in patients successfully treated for thrombotic thrombocytopenic purpura. Canadian Apheresis Group. Ann Intern Med 122(8): 569–72

Soejima K, Mimura N, Hirashima M, Maeda H, Hamamoto T, Nakagaki T, Nozaki C (2001) A novel human metalloprotease synthesized in the liver and secreted into the blood: possibly, the von Willebrand factor-cleaving protease? J Biochem (Tokyo) 130(4): 475–80

Studt JD, Kremer Hovinga JA, Antoine G, Hermann M, Rieger M, Scheiflinger F, Lämmle B (2005) Fatal congenital thrombotic thrombocytopenic purpura with apparent ADAMTS13 inhibitor: in vitro inhibition of ADAMTS13 activity by hemoglobin. Blood 105(2): 542–4

Studt JD, Kremer Hovinga JA, Alberio L, Bianchi V, Lämmle B (2003) Von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS-13) activity in thrombotic microangiopathies: diagnostic experience 2001/2002 of a single research laboratory. Swiss Med Wkly 133(23–24): 325–32

Swisher KK, Doan JT, Vesely SK, Kwaan HC, Kim B, Lämmle B, Kremer Hovinga JA, George JN (2007) Pancreatitis preceding acute episodes of thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome: report of five patients with a systematic review of published reports. Haematologica 92(7): 936–43

Takahashi H, Tatewaki W, Wada K, Shibata A (1989) Thrombin generation in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. Am J Hematol 32(4): 255–7

Tandon NN, Rock G, Jamieson GA (1994) Anti-CD36 antibodies in thrombotic thrombocytopenic purpura. Br J Haematol 88(4): 816–25

Terrell DR, Williams LA, Vesely SK, Lämmle B, Kremer Hovinga JA, George JN (2005) The incidence of thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome: all patients, idiopathic patients, and patients with severe ADAMTS-13 deficiency. J Thromb Haemost 3(7): 1432–6

Tsai HM, Chandler WL, Sarode R, Hoffman R, Jelacic S, Habeeb RL, Watkins SL, Wong CS, Williams GD, Tarr PI (2001) von Willebrand factor and von Willebrand factor-cleaving metalloprotease activity in Escherichia coli O157: H7-associated hemolytic uremic syndrome. Pediatr Res 49(5): 653–9

Tsai HM, Rice L, Sarode R, Chow TW, Moake JL (2000) Antibody inhibitors to von Willebrand factor metalloproteinase and increased binding of von Willebrand factor to platelets in ticlopidine-associated thrombotic thrombocytopenic purpura. Ann Intern Med 132(10): 794–9

Tsai HM, Lian EC (1998) Antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. N Engl J Med 339(22): 1585–94

Tsai HM (1996) Physiologic cleavage of von Willebrand factor by a plasma protease is dependent on its conformation and requires calcium ion. Blood 87(10): 4235–44

Uchida T, Wada H, Mizutani M et al. (2004) Identification of novel mutations in ADAMTS13 in an adult patient with congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. Blood 104(7): 2081–3

Upshaw JD (1978) Congenital deficiency of a factor in normal plasma that reverses microangiopathic hemolysis and thrombocytopenia. N Engl J Med 298(24): 1350–2

Vesely SK, George JN, Lämmle B, Studt JD, Alberio L, El-Harake MA, Raskob GE (2003) ADAMTS13 activity in thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome: relation to presenting features and clinical outcomes in a prospective cohort of 142 patients. Blood 102: 60–68

Veyradier A, Obert B, Haddad E et al. (2003) Severe deficiency of the specific von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS 13) activity in a subgroup of children with atypical hemolytic uremic syndrome. J Pediatr 142(3): 310–7

Veyradier A, Obert B, Houllier A, Meyer D, Girma JP (2001) Specific von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic microangiopathies: a study of 111 cases. Blood 98(6): 1765–72

Warwicker P, Goodship TH, Donne RL, Pirson Y, Nicholls A, Ward RM, Turnpenny P, Goodship JA (1998) Genetic studies into inherited and sporadic hemolytic uremic syndrome. Kidney Int 53(4): 836–44

Zheng XL, Kaufman RM, Goodnough LT, Sadler JE (2004) Effect of plasma exchange on plasma ADAMTS13 metalloprotease activity, inhibitor level, and clinical outcome in patients with idiopathic and nonidiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura. Blood 103(11): 4043–9

Zheng X, Chung D, Takayama TK, Majerus EM, Sadler JE, Fujikawa K (2001) Structure of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13), a metalloprotease involved in thrombotic thrombocytopenic purpura. J Biol Chem 276(44): 41059–63

## 34.2 HELLP-Syndrom

*W. Rath*

### Einleitung

Das HELLP-Syndrom gehört zur Gruppe der mikroangiopathischen Erkrankungen und kann als eine schwere Verlaufsform der Präeklampsie gewertet werden. Ausgelöst wird das HELLP-Syndrom durch eine uteroplazentare Dysfunktion, die im mütterlichen Organismus eine intravasale Hämolyse, eine Leberzellschädigung und eine Thrombozytopenie induziert. Das Akronym HELLP leitet sich aus den 3 Leitsymptomen »hemolysis, elevated liver enzymes, low platelet count« ab.

Die HELLP-Inzidenz wird mit 0,17–0,85% aller Lebendgeburten angegeben und zeigt eine erhebliche ethnische Varianz. Die Erkrankung manifestiert sich im Median in der 32. Schwangerschaftswoche. Seltener tritt sie vor der 27. Schwangerschaftswoche oder in den ersten Tagen nach der Geburt auf. Die Mississippi-Klassifikation unterteilt das HELLP-Syndrom entsprechend der Stärke der Thrombozytopenie und der Transaminasenerhöhung in 3 Schweregrade ein.

Eine kausale Therapie des HELLP-Syndroms ist nur durch die Entbindung möglich. Konservative Maßnahmen wie eine Glukokortikoidgabe können den Krankheitsverlauf positiv beeinflussen und eine Fortsetzung der Schwangerschaft ermöglichen. Im optimalen Fall kann dadurch eine extreme Frühgeburtlichkeit vermieden werden.



### 34.2.1 Definition

Das HELLP-Syndrom ist definiert als eine seltene Variante der Präeklampsie mit Hämolyse, pathologisch erhöhten Transaminasen und Bilirubinwerten sowie niedrigen Thrombozytenzahlen (HELLP: hemolysis, elevated liver enzymes, low platelet count).

### 34.2.2 Pathogenese

Die Pathogenese des HELLP-Syndroms ist multifaktoriell und in ihren Einzelheiten noch nicht komplett verstanden. Auslösende Ursache ist eine uteroplazentare Dysfunktion, deren morphologisches Korrelat eine inadäquate Umwandlung der myometranen Segmente der Spiralarterien in uteroplazentare Arterien ist. Einige Befunde deuten daraufhin, dass eine Aktivierung des mütterlichen Immunsystems gegenüber den fetalen Zellen für diese Fehlentwicklung verantwortlich ist.

Bei Patientinnen mit HELLP-Syndrom konnten sehr hohe Plasmakonzentrationen an sHLA-DR-Antigen (sHLA-DR = lösliches humanes Leukozytenantigen D-related) gemessen werden. Diese waren vergleichbar mit einer akuten Abstoßungsreaktion eines transplantierten Organs, wobei der Fetus die Rolle des Transplantats übernimmt. Durch Bestimmung der sHLA-DR-Spiegel können Patientinnen mit einem besonders hohen Risiko zur Entwicklung eines HELLP-Syndroms erkannt werden. Diese Befunde müssen anhand von klinischen Studien allerdings noch überprüft werden.

Transmembranöse Fas-Proteine, die zur Familie der Tumornekrosefaktorrezeptor-Proteinen gehören, scheinen ebenfalls eine Rolle in der Pathogenese des HELLP-Syndroms zu spielen. Diese Proteine werden durch T-Lymphozyten exprimiert und sind in die Regulation der Trophoblastinvasion in das Myometrium eingebunden. Eine Substitution in Position 670 des maternalen TNFRSF6-Gens erhöht die Sensitivität der maternalen Lymphozyten gegenüber dem Trophoblasten. Die Zellen werden während der Invasion in die Gebärmutterschleimhaut erkannt und zerstört. Daraus resultiert die für das HELLP-Syndrom typische Störung der Spiralaterien (Agatisa et al. 2004).

Als Folge der uteroplazentaren Insuffizienz kommt es zu einer Freisetzung von verschiedensten Mediatorsubstanzen, wie z. B. proinflammatorischen Zytokinen, Prostaglandinen und Endothelin. Diese freigesetzten Mediatoren induzieren in der mütterlichen Zirkulation eine Thrombozytenaktivierung, eine endotheliale Dysfunktion und eine arterielle Hypertonie (Benyo et al. 2001).

Aktivierte Thrombozyten adhärieren an das Endothel. Dadurch kommt es zu einem Verlust und einem Verbrauch der Thrombozyten. Gleichzeitig kommt es zu einer endothelialen Dysfunktion, die durch segmentale Spasmen weiter verstärkt wird.

Die Endothelzellaktivierung führt zu einer Freisetzung von hochmolekularen Von-Willebrand-Faktor-Multimeren, die wahrscheinlich vergleichbar der TTP und dem HUS eine wichtige Rolle in dem Thrombozytenumsatz spielen. Diese Annahme wird durch den Nachweis von erniedrigten ADAMTS13-Spiegeln, die in der TTP eine wichtige Rolle spielen, weiter untermauert (Hulstein et al. 2006).

Die Ursache für die Leberfunktionsstörung beim HELLP-Syndrom ist unklar. Wahrscheinlich vergleichbar mit der VOD (»venoocclusive disease«) und anderen sinusoidalen Obstruktionssyndromen kommt es durch eine intravasale Fibrinbildung mit einem nachfolgenden Ödem der sinusoidalen Endothelzellen zu einer Schädigung der Hepatozyten und zu einer starken Abnahme des Blutflusses in der Leber.

**! Die hepatische Ischämie kann zu hepatischen Infarkten mit der Ausbildung von subkapsulären Hämatomen und parenchymatösen Blutungen führen, die im Extremfall zu einer Leberruptur mit der daraus resultierenden unmittelbaren Lebensgefahr führen können.**

### 34.2.3 Klinik

Ein anamnestisch erkennbares Risikoprofil zur Entwicklung eines HELLP-Syndroms existiert nicht. Präexistente Leber- oder Nierenerkrankungen erhöhen das HELLP-Risiko nicht. Das mittlere Lebensalter der Schwangeren mit HELLP-Syndrom liegt zwischen 25 und 29 Jahren. Der Anteil an Erstgebärenden wird mit 52–81% angegeben.

Etwa 70% der Patientinnen entwickeln das HELLP-Syndrom im letzten Trimenon der Schwangerschaft (Sibai et al. 1993). Die Erstsymptomatik ist häufig unspezifisch und durch ein allgemeines Krankheitsgefühl mit Kopfschmerzen charakterisiert. Viele Patientinnen berichten über »grippeähnliche« Symptome. Seltener sind Blutungen in Form von Epistaxis, Hämaturie und gastrointestinale Blutungen. Zu den weiteren seltenen Erstmanifestationen gehören ein Ikterus, Netzhautablösungen und kortikale Erblindungen, Glaskörpereintrübungen, Pleuraergüsse und Aszites.

In der klinischen Untersuchung findet sich eine generalisierte Ödembildung, eine unphysiologische Gewichtszunahme und eine Druckschmerzempfindlichkeit in der Lebergegend. Über rechtsseitige Oberbauchschmerzen berichten 86–92% der HELLP-Patientinnen. Obwohl das HELLP-Syndrom eine schwere Form der Präeklampsie darstellt, sind die Hypertonie und eine Proteinurie nicht obligat. Etwa 20% der Patienten sind normoton, und bei 5–18% der Patientinnen ist keine Proteinurie nachweisbar. Etwa 15% der Patientinnen mit einem eindeutigen HELLP-Syndrom zeigen weder Hypertonie noch Proteinurie. Für diese Gruppe der HELLP-Patientinnen wurde die Bezeichnung »HELLP-Syndrom sine praeeclampsia« geprägt.

**! Bei jeder Schwangeren mit Oberbauchschmerzen sollte daher nach der 18. SSW unabhängig vom Schweregrad der Präeklampsie an ein HELLP-Syndrom gedacht werden.**

Der Verlauf eines HELLP-Syndroms kann nicht vorhergesagt werden. Die Erkrankung kann unter einer konservativen Therapie intermittierend mit passageren Remissionen verlaufen (Visser u. Wallenburg 1995). Das HELLP-Syndrom kann sich aus einer Präeklampsiesymptomatik plötzlich entwickeln und innerhalb weniger Stunden zu lebensbedrohlichen Komplikationen mit Entwicklung einer DIC (disseminierte intravasale Gerinnung, engl. »disseminated intravascular coagulation«) führen (Rath et al. 1994). Als prädiktiv für einen schweren Krankheitsverlauf gelten drastische Erhöhungen der LDH >1.400 U/l, der Aspartataminotransferase (AST) >150 U/l und der Harnsäure >7,8 mg/dl in Verbindung mit einer progredienten Thrombozytopenie und dynamisch ansteigenden D-Dimer-Spiegeln (Magann u. Martin 1999).

Neben der Entwicklung einer DIC sind die Pankreatitis und die Perikarditis Begleiterkrankungen, die durch ein HELLP-Syndrom ausgelöst werden können. Postpartal auftretende HELLP-Syndrome weisen eine höhere Inzidenz an Lungenödemen und einer Niereninsuffizienz auf als präpartale.

### 34.2.4 Diagnostik

Die Diagnose eines HELLP-Sydroms wird durch Nachweis einer Hämolyse, einer gestörten Leberfunktion und einer Thrombozytopenie gestellt.

#### Hämolyse

**! Ein Anstieg der Laktatdehydrogenase (LDH) über 600 U/l bei einer gleichzeitigen Reduktion der Haptoglobinplasmaspiegel sind erste Hinweise für das Vorliegen einer Hämolyse.**

Erst später kommt es zu einem Anstieg des indirekten Bilirubins und einem Abfall der Hb-Werte. Erniedrigte Haptoglobinspiegel finden sich bei 95–97% der HELLP-Patientinnen, sie haben daher eine hohe diagnostische Sensitivität (Rath et al. 2000). Nach der Entbindung kommt es nach 24–30 h zu einer Normalisierung der Haptoglobinspiegel. Die Messung der Gesamt-LDH stellt keinen zuverlässigen Hämolyseparameter beim HELLP-Syndrom dar, da die LDH-Erhöhung auch durch die Leberfunktionsstörung induziert sein kann. Als Zeichen der intravasalen Hämolyse

können Fragmentozyten im peripheren Blutbild nachgewiesen werden.

### Gestörte Leberfunktion

Entscheidendes diagnostisches Kriterium für die mit dem HELLP-Syndrom verbundene Leberschädigung ist der Transaminasenanstieg. Als pathologisch wird eine Erhöhung der Transaminasen um mindestens das 3-fache der Standardabweichung über dem Mittelwert gewertet. Nach der Tennessee-Klassifikation entspricht dies einer Erhöhung der Aspartataminotransferase (AST) über 70 IE/l. Die Mississippi-Klassifikation setzt den Grenzwert für die AST und/oder der Alaninaminotransferase (ALT) ebenfalls bei 70 IE/l. Der Anstieg der γ-GT und der alkalischen Phosphatase ist meist nur moderat (Martin et al. 2006).

Die bildgebende Diagnostik durch eine Ultraschalluntersuchung des Abdomens spielt eine wichtige Rolle, um subkapsuläre oder parenchymatöse Leberblutungen frühzeitig zu erkennen. Unklare oder auffällige Befunde sollten durch eine kernspintomographische Untersuchung weiter abgeklärt werden. Eine Leberbiopsie ist nur erforderlich, wenn sich Hinweise auf eine andere Genese der Lebererkrankung ergeben und die differenzialdiagnostische Abklärung für das weitere therapeutische Vorgehen relevant ist.

### Thrombozytopenie

Die klassische Definition des HELLP-Syndroms gibt für die Thrombozytopenie einen Wert von <100.000/µl an. Trotzdem kann eine Thrombozytenverminderung <150.000/µl bereits ein erstes Warnsignal darstellen.

> **Cave**
>
> Insbesondere ein dynamischer Abfall der Thrombozyten innerhalb von Stunden ist ein Indiz für die Progression der Erkrankung und mit erhöhter mütterlicher Morbidität verbunden.

Entsprechend der Thrombozytenzahl unterscheidet die Mississippi-Klassifikation 3 Schweregrade:
- Grad I: <50.000/µl,
- Grad II: 50.000–100.000/µl,
- Grad III: >100.000–150.000/µl.

Bewertungskriterium ist der niedrigste präpartal gemessene Thrombozytenwert. Das Ausmaß der Thrombozytopenie korreliert mit der Häufigkeit mütterlicher Komplikationen, der perinatalen Morbidität und Mortalität (Magann u. Martin 1999).

Klinisch relevant ist, dass mit dem Thrombozytennadir im Mittel erst 23–29 h post partum zu rechnen ist, mit anschließender Normalisierung innerhalb von 6–11 Tagen nach der Geburt. Ein fehlender Thrombozytenanstieg innerhalb von 96 h post partum gilt als Hinweis für einen schweren, nicht kompensierten Krankheitsverlauf mit Gefahr des Multiorganversagens. In 20–30% der postpartalen Verläufe kommt es zu einer reaktiven Thrombozytose mit Thrombozytenwerten nicht selten >1.000.000/µl. Möglicherweise resultiert daraus ein erhöhtes Thromboembolierisiko, sodass die Gabe von niedrig dosiertem ASS erwogen werden kann.

Thrombozytopenien treten bei 6–15% aller Schwangeren in Terminnähe auf. Eine isolierte Thrombozytopenie ist deswegen noch kein Beweis für das Vorliegen eines HELLP-Syndroms, sollte aber zu einer engmaschigen Kontrolle führen, da Schwangere mit einer Gestationsthrombozytopenie ein 7,4-fach höheres Risiko zur Entwicklung eines HELLP-Syndroms aufweisen (Boehlen 2006).

### Gerinnungsanalytik

Um das Ausmaß der systemischen Aktivierung des Hämostasesystems zu bewerten, wird die Durchführung eines Gerinnungsstatus unter Einschluss der Parameter APTT, Quick/INR, Fibrinogen, Antithrombin und des D-Dimers empfohlen. Spezifische Marker einer gesteigerten intravasalen Gerinnung stehen dem Geburtshelfer in der Akutsituation nicht zur Verfügung.

## 34.2.5 Differenzialdiagnostik

Die häufigste Ursache von persistierenden Oberbauchschmerzen in der Schwangerschaft ist das HELLP-Syndrom. Allerdings müssen folgende Erkrankungen, die ebenfalls das Symptom Oberbauchschmerzen erklären können, in die differenzialdiagnostische Überlegung einbezogen werden:
- Cholezystitis/Cholelithiasis,
- Hiatushernie,
- Pankreatitis,
- Hepatitis,
- Gastritis,
- Pyelonephritis,
- Appendizitis.

Eine Abgrenzung zu anderen Hepatopathien kann anhand der in Tab. 34.2 zusammengefassten Kriterien erfolgen.

Weiterhin schwierig ist die Abgrenzung des HELLP-Syndroms von den anderen mikroangiopathischen Erkrankungen wie der thrombotisch-thrombozytopenischen Purpura (TTP) und dem hämolytisch-urämischen Syndrom (HUS). Die in Tab. 34.3 zusammengefassten Symptome zeigen, dass das Auftreten von Fieber, die Transaminasenerhöhung sowie die Hypertonie geeignete differenzialdiagnostische Parameter sind. Hinzu kommt, dass die TTP und das HUS in der Schwangerschaft im Vergleich zum HELLP-Syndrom extrem selten auftreten.

**Tab. 34.2.** Differenzialdiagnostische Abgrenzung des HELLP-Syndroms zu anderen Lebererkrankungen

| Kriterium | HELLP-Syndrom | Akute Schwangerschaftsfettleber | Virushepatitis | Intrahepatische Schwangerschaftscholestase |
|---|---|---|---|---|
| Hämolyse | ++ | (+) | – | – |
| Anstieg der Transaminasen | ++ | ++ | +++ | ++ |
| Thrombozytopenie | ++ | + | – | – |
| Hypertonie | ++ | + | – | – |
| Proteinurie | +++ | + | – | – |
| Leukozytose | – | +++ | ++ | – |
| Niereninsuffizienz | + bis +++ | + | – | – |
| Neurologische Symptome | + bis +++ | ++ | – | – |
| Ikterus | (+) | + | +++ | ++ |
| Andere | DIC | Hypoglykämie, DIC | Bilirubinämie | Pruritus, Cholestase |

*DIC* disseminierte intravasale Gerinnung; – i.A. nicht nachweisbar, + gering, ++ mittelgradig, +++ stark ausgeprägt

**Tab. 34.3.** Differenzialdiagnostische Abgrenzung des HELLP-Syndroms zur thrombotisch-thrombozytopenischen Purpura (TTP) und dem hämolytisch-urämischen Syndrom (HUS)

| Kriterium | HELLP-Syndrom | TTP | HUS |
|---|---|---|---|
| Hämolyse | ++ | +++ | +++ |
| Anstieg der Transaminasen | ++ | (+) | (+) |
| Thrombozytopenie | ++ | +++ | +++ |
| Hypertonie | ++ | (+) | + |
| Proteinurie | +++ | + | ++ |
| Fieber | – | + | + |
| Niereninsuffizienz | + bis +++ | + | +++ |
| Neurologische Symptome | + bis +++ | +++ | + |
| Ikterus | (+) | + | ++ |
| ADAMTS13-Mangel | – | +++ | (+) |

– i.A. nicht nachweisbar, + gering, ++ mittelgradig, +++ stark ausgeprägt

Schwierig ist die Abgrenzung des HELLP-Syndroms von Autoimmunerkrankungen wie dem Lupus erythematodes, dem Antiphospholipidsyndrom und dem Evans-Syndrom. Bei Patientinnen mit systemischem Lupus erythematodes ist eine Schwangerschaftskomplikation die Propf-Präeklampsie, die mit einer Häufigkeit von 2,8–25% auftritt. Die typische Anamnese und der Nachweis von antinukleären Antikörpern sind diagnostisch hinweisend.

Beim Antiphospholipidsyndrom tritt in etwa 50% der Fälle eine Präeklampsie während der Schwangerschaft auf. Neben dem fehlenden Transaminasenanstieg ist eine Abgrenzung zum HELLP-Syndrom durch den Nachweis der Antiphospholipidantikörper möglich. Das Evans-Syndrom, gekennzeichnet durch die Kombination aus autoimmunhämolytischer Anämie und einer Thrombozytopenie, kann durch den positiven direkten Antiglobulintest (Coombs-Test) und durch den Nachweis von antithrombozytären Antikörpern differenzialdiagnostisch abgegrenzt werden.

### 34.2.6 Mütterliche Morbidität und Mortalität

In Abhängigkeit vom Schweregrad der Erkrankung (Mississippi-Grad I–III) kommt es in 12,5–65% zu behandlungsbedürftigen mütterlichen Komplikationen (Rath et al. 2000). In der bisher größten Fallstudie zum HELLP-Syndrom waren folgende mütterliche Komplikationen führend (Sibai et al. 1993):
- disseminierte intravasale Gerinnung: 21%
- vorzeitige Plazentalösung: 16%
- akutes Nierenversagen: 8%
- Lungenödem: 6%
- ausgeprägter Aszites und Pleuraergüsse: 6–8%
- Leberruptur: 1%

Alle diese Komplikationen können auch bei schwerer Präeklampsie auftreten und sind deswegen nicht HELLP-spezifisch. Sie kommen beim HELLP-Syndrom aber signifikant häufiger vor. So lag die Frequenz schwerer mütterlicher Komplikationen beim HELLP-Syndrom der Klasse I nach der Mississippi-Klassifikation mit 50% deutlich höher als bei der schweren Präeklampsie mit 11% (Martin et al. 1999).

In Abhängigkeit vom Schweregrad des HELLP-Syndroms entwickeln 4–38% der Patientinnen eine DIC (Rath et al. 2000). In der Initialphase der Erkrankung sind die globalen Gerinnungsparameter wie Thrombinzeit, APTT, Fibrinogen und Antithrombin in 10–42% der Fälle pathologisch verändert, ohne dass es zu klinisch relevanten Blutungen kommt (Rath et al. 1991, 1994). Bei foudroyant verlaufendem HELLP-Syndrom ohne rechtzeitige Beendigung der Schwangerschaft kann es innerhalb von Stunden zu einer klinisch-manifesten DIC kommen, insbesondere dann, wenn gleichzeitig eine vorzeitige Plazentalösung (Häufigkeit 9–16%) vorliegt, die ihrerseits bei schwerer Ausprägung in bis zu 35% der Fälle mit einer DIC assoziiert ist. Der Schweregrad der DIC korreliert mit dem Ausmaß des HELLP-Syndroms und der mütterlichen Komplikationsrate.

In der Akutsituation ist es für den Geburtshelfer, dem in dieser Situation im Allgemeinen keine spezielle Gerinnungsanalytik zur Verfügung steht, schwierig, das Ausmaß der intravasalen Gerinnungsaktivierung rechtzeitig und präzise zu erfassen. Daher sind Verlaufskontrollen des Gerinnungsstatus in kurzfristigen Intervallen (4–6 h) unerlässlich.



**! Bei laborchemischem Hinweis auf eine DIC, erkennbar durch dynamisch abfallende Thrombozytenzahlen, Erniedrigung der Antithrombinspiegel und einem rapiden Anstieg der D-Dimere, sollte zur Vermeidung lebensbedrohlicher mütterlicher Komplikationen unverzüglich die Schwangerschaftsbeendigung eingeleitet werden (Rath et al. 2007).**

Infolge der gestörten Hämostase muss mit Bauchdeckenhämatomen in bis zu 20% der Fälle gerechnet werden.

Die Leberruptur ist eine akut lebensbedrohliche Komplikation des HELLP-Syndroms, die mit einer Häufigkeit von 1–1,5% auftritt und mit einer mütterlichen und kindlichen Mortalität von 59% und 42% belastet ist. Leberrupturen können zwischen der 16. SSW und bis zu 3 Tage post partum auftreten. Sie betreffen vorwiegend den anteriorsuperioren Anteil des rechten Leberlappens. Besonders gefährdet sind Schwangere mit persistierenden Oberbauchschmerzen 24–48 h post partum, bei denen vor der Geburt die Zeichen der Präeklampsie fehlten. Daher sollte bei jeder Schwangeren mit anhaltenden Oberbauchschmerzen und Verdacht auf HELLP-Syndrom möglichst frühzeitig eine Oberbauchsonographie zum Ausschluss eines subkapsulären Leberhämatoms durchgeführt werden. Sonographische Auffälligkeiten der Leber lassen sich oft schon vor der laborchemischen Manifestation der Erkrankung nachweisen.

Letale Verläufe der Leberruptur können durch die rasche Diagnosestellung und umgehende operative Intervention eines erfahrenen Abdominalchirurgen vermieden werden, wobei das operative Spektrum vom »Leber-Packing« bis zur orthotopen Lebertransplantation bei ausgedehnter Leberschädigung reicht (Dessole et al. 2007).

**! Eine weitere akut lebensbedrohliche Komplikation des HELLP-Syndroms ist die intrazerebrale Blutung, die in 50–65% der Fälle tödlich verläuft. Der plötzliche diastolische Blutdruckanstieg auf Werte über 120 mmHg sowie eine begleitende Gerinnungsstörung sind Faktoren, die den Verlauf einer intrazerebralen Blutung ungünstig beeinflussen.**

In den westlichen Industrieländern liegt die mütterliche Mortalität des HELLP-Syndroms unter 4%, während die Mortalitätsrate in den Entwicklungsländern bis zu 30% beträgt. Eine Analyse von 54 an den Folgen eines HELLP-Syndroms verstorbenen Patientinnen nennt als Todesursachen zerebrale Blutungen, kardiopulmonale Komplikationen meist in Verbindung mit einem akuten Nierenversagen, die Entwicklung einer DIC und deren Folgen, die Entwicklung eines ARDS (»adult resiratory distress syndrome«), Sepsis, Leberruptur und die hypoxisch-ischämische Enzephalopathie (Baxter u. Weinstein 2004, Martin et al. 2006).

### 34.2.7 Kindliche Mortalität und Morbidität

Die perinatale kindliche Mortalität ist hoch und wird mit 8–37% angegeben (Baxter u. Weinstein 2004). Etwa 10–58% versterben bereits intrauterin.

Entscheidend für die neonatale Morbidität sind die Frühgeburtlichkeit und die intrauterine Mangelentwicklung des Kindes. Eine intrauterine Wachstumsrestriktion durch eine chronische Plazentainsuffizienz findet sich in 30–58% der Fälle. Vorzeitige Plazentalösungen sind häufig. Das HELLP-Syndrom per se hat keinen oder allenfalls nur einen geringen Einfluss auf die kindliche Morbidität. Beispielsweise besteht keine Korrelation zwischen den hämatologischen Veränderungen des Neu-(Früh-)geborenen und denen der Mutter (Harms et al. 1995).

### 34.2.8 Therapie

Eine kausale Therapie des HELLP-Syndroms erfordert die Entbindung, da nur mit der Entfernung der Plazenta die krankheitsauslösende Ursache beseitigt werden kann. Kon-

servative Maßnahmen wie die Glukokortikoidgabe können die Krankheitsaktivität senken, sodass die Schwangerschaft unter kontrollierten klinischen Bedingungen fortgesetzt werden kann. Im optimalen Fall kann dadurch eine extreme Frühgeburtlichkeit vermieden werden.

### Konservative Maßnahmen

Besteht klinisch der Verdacht auf das Vorliegen eines HELLP-Syndroms, sollte die sofortige Einweisung der Schwangeren in ein Perinatalzentrum erfolgen. Dort erfolgt neben dem laborchemischen Screening zur Diagnosestellung bei einem Schwangerschaftsalter <34. Woche eine Induktion der fetalen Lungenreifung mit Betamethason und eine Stabilisierung des mütterlichen Zustands unter intensiver Überwachung mit folgenden Erstmaßnahmen:

- Konvulsionsprophylaxe durch hoch dosierte intravenöse Applikation von Magnesiumsulfat,
- Stabilisierbarkeit des mütterlichen Zustands einschließlich der Abschätzung einer sich anbahnenden Gerinnungsstörung,
- schonende antihypertensive Therapie zur Vermeidung von zerebrovaskulären Komplikationen, in der Akuttherapie z. B. Nifedipin oral, Urapidil oder Dihydralazin i.v., anderenfalls orale Gabe von α-Methyldopa.

Die Effektivität einer intravenösen Applikation von gering plazentagängigen Glukokortikoiden wie Methylprednisolon und Dexamethason ist in klinischen Studien untersucht (Martin et al. 2006; Rath et al. 2007).

> **!** **In der Mehrzahl der behandelten Patientinnen führte die Glukokortikoidgabe zu einer Remission des HELLP-Syndroms, die mütterliche und kindliche Morbidität konnte gesenkt werden.**

Die Dauer der Remissionsphase ist sehr unterschiedlich. Einer Cochrane-Analyse zufolge ist allerdings eine abschließende Bewertung der Glukokortikoidtherapie noch nicht möglich und bleibt großen randomisierten Studien vorbehalten (Matahaba u. Moodley 2006).

Nach eigenen Erfahrungen ist durch die Gabe von Glukokortikoiden eine Schwangerschaftsprolongation von im Mittel 10 Tagen zu erreichen, allerdings kommt es dann meist zu erneuten HELLP-Schüben und zur Notwendigkeit der raschen Schwangerschaftsbeendigung. Die postpartale Gabe von Glukokortikoiden (Dexamethason) führt beim HELLP-Syndrom zu einer rascheren Normalisierung der Laborwerte, insbesondere der Thrombozytopenie.

Analog dem Vorgehen bei der TTP wurde in Einzelfällen eine Plasmapheresebehandlung antenatal und v. a. beim schweren postpartalen HELLP-Syndrom mit Organversagen eingesetzt (Eckford et al. 1998; Eser et al. 2005). Die Plasmapherese führte in diesen Fällen zu einer Verminderung der mütterlichen Morbidität und Mortalität.

### Geburtshilfliches Vorgehen

Die geburtshilfliche Entscheidung, ob eine rasche Schwangerschaftsbeendigung notwendig oder ein abwartendes Vorgehen möglich ist, sollte folgende Kriterien berücksichtigen (Rath 2005):

- Schweregrad und Dynamik des HELLP-Syndroms,
- Stabilisierbarkeit des mütterlichen Zustands einschließlich der Abschätzung einer sich anbahnenden Gerinnungsstörung,
- Organreife des Kindes und dessen aktuelles Befinden in utero.
- Im Hinblick auf das Auftreten unvorhersehbarer mütterlicher Komplikationen sollte ab der 34. SSW die Schwangerschaft möglichst rasch beendet werden.

Vor der 34. SSW ist eine Prolongation der Schwangerschaft im Hinblick auf eine Senkung der neonatalen Morbidität und Mortalität anzustreben. Dies setzt jedoch die Möglichkeit zur Intensivüberwachung von Mutter und Kind, die Verfügbarkeit engmaschiger Laborkontrollen und die Möglichkeit zur sofortigen Schwangerschaftsbeendigung durch Sectio caesarea und einer optimalen interdisziplinären Kooperation (Neonatologie, Anästhesie, Hämostaseologie) – vorzugsweise in einem Perinatalzentrum – voraus. Grundsätzlich sollten die gültigen fetalen und mütterlichen Indikationen zur Schwangerschaftsbeendigung, die denen der schweren Präeklampsie entsprechen, berücksichtigt werden (Rath et al. 2007).

### Gerinnungsmanagement

Die häufigste mit dem Auftreten eines HELLP-Syndroms assoziierte Gerinnungsstörung ist die DIC (▶ Kap. 34.3). Die grundsätzliche Gabe eines niedrig dosierten Heparins zur Prophylaxe einer DIC und zur Behandlung einer HELLP-assoziierten Hyperkoagulabilität wird nicht empfohlen. Durch die Heparingabe könnte das Risiko unvorhersehbarer Blutungskomplikationen des HELLP-Syndroms (z. B. vorzeitige Lösung, zerebrale Blutungen) verstärkt werden. Auch besteht durch die hohe Wahrscheinlichkeit einer abdominellen Schnittentbindung ein erhöhtes Blutungsrisiko (Detti et al. 2005). Post partum ist nach Konsolidierung der Gerinnungssituation, v. a. nach Sectio caesarea, eine Thromboseprophylaxe mit niedermolekularem Heparin indiziert.

## 34.2.9 Prognose

Das Rezidivrisiko für ein HELLP-Syndrom liegt bei 2–19%, in einer deutschlandweiten Studie lag es bei 12,8% (Rath 2005). Schwangeren ohne Folgeerkrankungen ist daher nicht von einer erneuten Schwangerschaft abzuraten, die allerdings als Risikogravidität zu überwachen ist. Im Vergleich zu einem HELLP-Syndrom in Terminnähe besteht

für ein frühes HELLP-Syndrom (≤32. SSW) ein höheres Wiederholungsrisiko. Diesen Frauen wird eine Untersuchung auf angeborene oder erworbene Thrombophilien empfohlen (Rath et al. 2007).

**! Im Mittel muss in 20% der Fälle (16–52%) in nachfolgenden Schwangerschaften mit anderen hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen gerechnet werden (Martin et al. 2006).**

Untersuchungen 5 Jahre nach HELLP-Syndrom zeigten keine negative Beeinflussung der Nieren- und Leberfunktion, wohl aber erhöhte systolische und diastolische Blutdruckwerte im Vergleich zu Frauen nach unkomplizierten Schwangerschaften (Jacquemyn et al. 2004).

Bei Präeklampsie wurde ein signifikant erhöhtes Risiko für eine chronische Hypertonie sowie zerebrokardiovaskuläre Erkrankungen mit und ohne Todesfolge im weiteren Lebensverlauf der Betroffenen festgestellt (Garovic u. Hayman 2007). Bei Erstgebärenden mit Präeklampsie lag das kumulative Risiko einer chronischen Hypertonie 15 Jahre später bei 51% gegenüber 14% nach normotensiver Schwangerschaft (Sibai et al. 1986).

## Literatur


Agatisa PK, Ness RB, Roberts JM et al. (2004) Impairment of endothelial function in women with a history of preeclampsia: an indicator of cardiovascular risk. Am J Physiol Heart Circ Physiol 286: H1389–1393

Baxter JK, Weinstein L (2004) HELLP syndrome: The state of the art. Obstet Gynecol Surv 59: 838–845

Benyo DF, Smarason A, Redman CW et al. (2001) Expression of inflammatory cytokines in placentas from women with preeclampsia. J Clin Endocrinol Metab 86: 2505–2512

Boehlen F (2006) Thrombocytopenie in pregnancy. Haemostaseologie 1: 72–74

Detti L, Mecaci F, Piccioli A et al. (2005) Postpartum heparin therapy for patients with HELLP syndrome is associated with significant hemorrhagic complications. J Perinat 25: 236–240

Dessole S, Capobianco G, Virdis P et al. (2007) Hepatic rupture after cesarean section in a patient with HELLP syndrome: a case report and review of the literature. Arch Gynecol Obstet 276: 189–192

Eckford SD, MacNab IL, Turner ML et al. (1998) Plasmapheresis in the management of HELLP syndrome. J Obstet Gynecol 18: 377–379

Eser B, Guven M, Unal A et al. (2005) The role of plasma exchange in HELLP syndrome. Clin Appl Thrombosis/Hemostasis 11: 211–217

Garovic VD, Hayman SR (2007) Hypertension in pregnancy: an emerging risk factor for cardiovascular disease. Nat Clin Pract Nephrol 3(11):613–622

Harms K, Rath W, Herting E, Kuhn W (1995) Maternal hemolysis, elevated liver enzymes, low platelet count and neonatal outcome. Am J Perinatol 12: 1–6

Hulstein JJ, van Runnard Heimpel PJ, Franx A et al. (2006) Acute activation of the endothelium results in increased levels of active von Willebrand factor in hemolysis, elevated liver enzymes and low platelets (HELLP) syndrome. J Thromb Haemost 4: 2569–2575

Jacquemyn Y, Jochems L, Duiker E et al. (2004) Long-term renal function after HELLP syndrome. Gynecol Obstet Invest 57: 117–120

Magann EF, Martin JW (1999) Twelve steps to optimal management of HELLP syndrome. Cin Obstet Gynecol 42: 532–543

Martin JW, May WL, Magann EF et al. (1999) Early risk assessment of severe preeclampsia: admission battery of symptoms and laboratory tests to predict likelihood of subsequent significant maternal morbidity. Am J Obstet Gynecol 180: 1407–1414

Martin JW, Rose CH, Briery ChM (2006) Understanding and managing HELLP syndrome: the integral role of aggressive glucocorticoids for mother and child. Am J Obstet Gynecol 195: 914–934

Matahaba P, Moodley J (2006) Corticosteroids for HELLP syndrome in pregnancy (Review). The Cochrane Library Issue 2

Rath W, Loos H, Kuhn W (1994) Das HELLP-Syndrom. Zentralbl Gynäkol 116: 195–205

Rath W, Wieding JU, Kuhn W (1991) Erkenntnisse über hämostaseologische Veränderungen bei Gestose und HELLP-Syndrom für die klinische Praxis. Geburth Frauenheilk 51: 741–746

Rath W, Faridi A, Dudenhausen JW (2000) HELLP syndrome. J Perinat Med 28: 249–260

Rath W (2005) Hypertensive Schwangerschaftserkrankungen. In: Rath W, Friese K (Hrsg) Erkrankungen in der Schwangerschaft. Stuttgart: Thieme, S 73–97

Rath W, Fischer T, Klockenbusch W et al. (2007) Diagnostik und Therapie hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen. AWMF 015/018: 2

Sibai BM, El-Nazar A, Gonzalez-Ruiz A (1986) Severe preeclampsia-eclampsia in young primigravid women. Subsequent pregnancy outcome and remote prognosis. Am J Obstet Gynecol 155: 1011–1016

Sibai BM, Ramadan MK, Usta J et al. (1993) Maternal morbidity and mortality in 442 patients with HELLP syndrome. Am J Obstet Gynecol 169: 1000–1006

Visser W, Wallenburg HCS (1995) Temporising management of severe preeclampsia with and without HELLP syndrome. BJOG 102: 111–120

## 34.3 Disseminierte intravasale Gerinnung (DIC)

*B. Pötzsch, K. Madlener*



### Einleitung

Die disseminierte intravasale Gerinnung (engl. »disseminated intravascular coagulation«, DIC) ist eine erworbene lebensbedrohliche Gerinnungsstörung. Sie wird durch eine systemische Gerinnungsaktivierung ausgelöst und führt im Vollbild zu einem thrombotischen Multiorganversagen bei gleichzeitiger Blutungsneigung. Das Auftreten einer DIC erhöht die Morbidität und die Mortalität der auslösenden Grunderkrankung. Diagnostisch wegweisend sind das Vorliegen einer prädisponierenden Grunderkrankung und der Nachweis eines progredienten Mangels an Gerinnungsfaktoren und Thrombozyten bei gleichzeitigem Nachweis von löslichem Fibrin oder massiv erhöhten Fibrindegradationsprodukten.

Therapeutisch steht die Behandlung der Grunderkrankung im Vordergrund, weil nur dadurch die DIC-auslösende Gerinnungsaktivierung unterbrochen werden kann. Durch die Substitution mit rekombinantem aktiviertem Protein-C-Konzentrat kann die Letalität der sepsisassoziierten DIC gesenkt werden. Die postulierte Wirksamkeit einer niedrig dosierten Heparintherapie genauso wie die Substitution mit Antithrombinkonzentrat und »tissue factor pathway inhibitor« konnte durch Studien nicht belegt werden. Beim Auftreten von Hb-relevanten oder bedrohlichen Blutungen besteht eine Indikation zur Substitution mit Plasma, Faktorenkonzentraten und Thrombozyten. Eine oft befürchtete Verschlechterung des DIC-Verlaufs tritt dadurch nicht auf.

### 34.3.1 Pathophysiologie

#### Systemische Gerinnungsaktivierung

Schwere Infektionen oder septische Erkrankungen sind eine Hauptursache für die Entwicklung einer DIC. Sie führen durch Induktion der Expression von Gewebethromboplastin (Tissue Factor, TF) in Endothelzellen, Monozyten und anderen vaskulären Zellen zu einer systemischen Gerinnungsaktivierung (Levi et al. 2006). Grundsätzlich können alle bakteriellen Septikämien zu einer DIC führen. Bei Infektionen mit gramnegativen Bakterien kommt es durch die Freisetzung von Lipopolysaccharid zu einer direkten TF-Stimulation von Monozyten und Endothelzellen (Levi et al. 2006). Bei grampositiven Bakterien kommt es zunächst zu einer Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen durch Leukozyten, die nachfolgend zu einer prokoagulatorischen Aktivierung der Monozyten und anderen Blutzellen führen. Ein solcher »Zytokin-Shower« kann auch in der gramnegativen Sepsis die Gerinnungsaktivierung erheblich verstärken (ten Cate et al. 1999).

Neben bakteriellen können auch virale und parasitäre Infektionen eine zur DIC führende Gerinnungsaktivierung induzieren. Eher untypisch ist die Entwicklung einer DIC bei Septikämien, die durch Hefen oder Pilze ausgelöst werden.

Viele Tumorzellen überexprimieren TF oder andere gerinnungsaktivierende Substanzen (Levi et al. 2006). Daraus kann eine starke Gerinnungsaktivierung resultieren. Diese direkte Gerinnungsaktivierung wird verstärkt durch die Sekretion von proinflammatorischen Zytokinen, wie z. B. Interleukin-1β oder Tumornekrosefaktor, oder durch einen gesteigerten Zelluntergang beispielsweise durch eine zytoreduktive Therapie (Barbui u. Falanga 2001).

Bei polytraumatisierten Patienten kommt es durch den Kontakt des Blutes mit dem verletzten Gewebe und durch die Einschwemmung von TF-reichem Material in die Zirkulation zu einer massiven Gerinnungsaktivierung. Insbesondere bei offenen Schädel-Hirn-Verletzungen und bei Verletzungen von Röhrenknochen kommt es zu einer massiven Gerinnungsaktivierung. Ähnlich wie im Fall der Entzündung und bei Tumorerkrankungen wird die TF-Expression im Rahmen des Postaggressionsstoffwechsels zytokinabhänig verstärkt. In ▪ Tab. 34.4 sind zur Ausbildung einer DIC prädisponierende Erkrankungen zusammengefasst. Eine schematische Übersicht über die Pathophysiologie der DIC zeigt ▪ Abb. 34.4.

#### Thrombinämie und endotheliale Dysfunktion

Trotz vergleichbarer Stärke der Gerinnungsaktivierung entwickelt nur ein Teil der Patienten mit den in ▪ Tab. 34.4 beschriebenen Grunderkrankungen eine DIC. Eine entscheidende Voraussetzung für die DIC-Entwicklung ist, dass die Gerinnungsaktivierung unreguliert erfolgt und die

**Tab. 34.4.** Zur Entwicklung einer DIC prädisponierende Erkrankungen

| Erkrankungsgruppe | Erkrankungen |
|---|---|
| Septische Erkrankungen und schwere Infektionen | Unabhängig vom Erreger |
| Schwangerschafts-/Geburtskomplikationen | Abruptio placentae, Fruchtwasserembolie, septischer Abort |
| Maligne Erkrankungen | Myelo- und lymphoproliferative Erkrankungen, solide Tumoren |
| Traumata | Polytraumen, Schädel-Hirn-Traumen, Fettembolien, Verbrennungen |
| Organschädigungen | Nekrotisierende Pankreatitis, Leberzerfallskoma, akute Glomerulonephritis |
| Gefäßschädigungen/-anomalien | Aortenaneurysma, Kasabach-Merritt-Syndrom |
| Schwere toxische oder immunologische Systemreaktion | Hämolytische Transfusionsreaktion, akute Transplantatabstoßung, Schlangenbisse, Medikamente |

zur Begrenzung der Thrombinämie führenden endogenen Regulationsmechanismen versagen. Derartige Funktionsstörungen wurden für die 3 wesentlichen Regulationssysteme der Thrombinbildung, dem »tissue factor pathway inhibitor«-System (TFPI-System), dem Antithrombin-Heparin- und dem Protein-C-Heparin-System beschrieben.

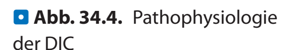
Das TFPI-System hemmt die TF-Faktor-VIIa-vermittelte FX-Aktivierung und reguliert dadurch unmittelbar die TF-abhängige Gerinnungsaktivierung. Dieser Wirkmechanismus legt nahe, dass eine verminderte TFPI-Aktivität oder eine Erschöpfung des TFPI-Systems das Entstehen einer DIC begünstigen. Tatsächlich ist bei Patienten mit einer DIC und im Endotoxin-getriggerten DIC-Tiermodell ein funktioneller TFPI-Mangel nachweisbar (Levi et al. 2001). Im Unterschied zum Tiermodell kann durch die Substitution von rekombinantem TFPI bei Patienten mit schwerer Sepsis weder das Auftreten einer DIC verhindert noch die Mortalität gesenkt werden (Abraham et al. 2001, 2003). Daraus kann geschlossen werden, dass die zur DIC führende Gerinnungsaktivierung so stark ist, dass sie durch die inhibitorische Wirkung des TFPI-Systems nicht kompensiert werden kann (Levi 2002).

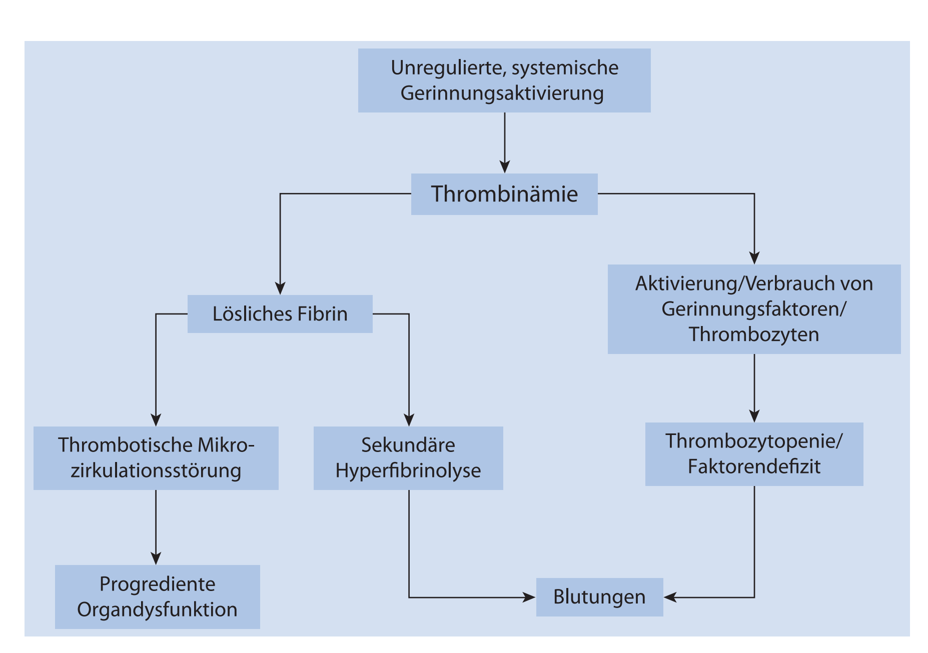
Bei DIC-Patienten kommt es zu einer Erschöpfung des Antithrombin-Heparin-Systems und nachfolgend zu einer starken Erniedrigung der Antithrombinaktivität. Hierfür sind 3 verschiedene Mechanismen verantwortlich:

1. Die Thrombinämie ist so ausgeprägt, dass es durch die Bildung von Thrombin-Antithrombin-Komplexen zu einem direkten Verbrauch von Antithrombin kommt.
2. Die progrediente Leberinsuffizienz führt zu einer verminderten Synthese von Antithrombin.
3. Es kommt zu einem unspezifischen Abbau des Antithrombins durch eine Reihe von Proteasen, denn Elastase und andere proteolytisch wirkende Enzyme werden von monozytären Zellen freigesetzt (Levi et al. 1997).

Ursächlich für die Funktionsstörung des Protein-C-Systems in der DIC ist der Verbrauch von Protein C und seines Kofaktors Protein S durch die globale Aktivierung und die mit der DIC und meist schon mit der Grunderkrankung ver-




**Abb. 34.4.** Pathophysiologie der DIC



bundene endotheliale Dysfunktion. Ausgelöst wird die endotheliale Dysfunktion durch eine Schädigung der Endothelzellen und durch die Induktion eines prokoagulatorischen endothelialen Phänotyps, beispielsweise durch Zytokinwirkung (Levi et al. 1997). In der Anfangsphase einer DIC kommt es durch die Thrombinämie zu einer überschießenden Bildung von aktiviertem Protein C (APC) mit einem nachfolgenden Zusammenbruch des APC-Systems. Während die überschießende APC-Bildung die Blutungsneigung verstärken kann, führt der nachfolgende Ausfall des APC-Systems zu einer Verstärkung der Thrombinämie.

Die DIC-auslösende Gerinnungsaktivierung führt zu einem intravasalen Verbrauch von Gerinnungsfaktoren und Thrombozyten. Dieser ist so ausgeprägt, dass er vom Organismus nicht kompensiert werden kann und zu einer Blutungsneigung führt. Durch die massiv gesteigerte Thrombinbildung kommt es zu einer systemischen Aktivierung von Fibrinogen. Durch das Übergewicht an Thrombin und einer unregulierten Aktivierung mit nachfolgendem Verbrauch von Faktor XIII werden hauptsächlich lösliche Fibrinpolymere gebildet. Der Anteil an quervernetztem Fibrin ist niedrig.

**! Das lösliche Fibrin präzipitiert im Kapillarstromgebiet und blockiert die Mikrozirkulation. Besonders in gefäßreichen Organen führt dies frühzeitig zu einer Organdysfunktion bis hin zum Organversagen.**

### Hyperfibrinolyse

Die Endothelzellaktivierung durch Zytokine und lösliches Fibrin sowie die hypoxische Endothelzellschädigung führen zu einer massiven Freisetzung von Plasminogenaktivatoren. Die ausgelöste systemische Plasmingenerierung spiegelt sich in einer Abnahme der Konzentrationen an aktivierbarem Plasminogen, an $\alpha_2$-Antiplasmin und einem Anstieg der Plasmin-$\alpha_2$-Antiplasmin-Komplexe wider (Levi et al. 1997). Die Aktivierung des Fibrinolysesystems kann einerseits wahrscheinlich die thrombotische Mikrozirkulationsstörung begrenzen und eine Wiedereröffnung verschlossener Gefäßprovinzen ermöglichen. Andererseits kommt es durch einen Verbrauch und eine Synthesestörung der Plasminogenaktivatorinhibitoren und von $\alpha_2$-Antiplasmin zu einem Zusammenbruch der regulativen antifibrinolytischen Mechanismen. Die daraus resultierende systemische Hyperfibrinolyse verstärkt die Blutungsneigung.

## 34.3.2 Klinik

Die DIC ist mit einem progredienten thrombotischen Organversagen verbunden und induziert eine Blutungsneigung. Ingesamt wird die Morbidität und Mortalität der Grunderkrankung durch die DIC-Entwicklung erheblich gesteigert. In (Tab. 34.5) sind DIC-typische Symptome entsprechend ihrer Häufigkeit zusammengefasst.

**Tab. 34.5.** Symptome der DIC

| Symptom | Ausprägung | Häufigkeit |
|---|---|---|
| Blutung | Ekchymosen und Suggilationen | Meist |
| | Schleimhautblutungen | Meist |
| | Blutungen aus Punktionsstellen | Meist |
| | Diffuse Blutungen im Wundgebiet | Meist |
| | Bedrohliche Hb-relevante Blutung | Häufig |
| | Intrazerebrale Blutung | Selten |
| Thrombose | Thrombotische Mikrozirkulationsstörung mit konsekutivem Organversagen | Meist |
| | Thrombotische Nekrosen der Akren | Häufig |
| | Venöse Thrombosen | Selten |
| | Arterielle Thrombose | Sehr selten |

### Blutungen

Ausgelöst durch den Verbrauch von Gerinnungsfaktoren und Thrombozyten sowie durch die sekundäre Hyperfibrinolyse kommt es zu einer Blutungsneigung, die sich v. a. in Form von mikrovaskulären Blutungen manifestiert (Levi u. ten Cate 1999). Einblutungen in Schleimhäute und in die Haut treten im gesamten Körperbereich auf. Geringe Druckstellen, wie sie z. B. lagerungsbedingt auftreten können, führen häufig zu großflächigen Hautblutungen (Suggilationen, Ekchymosen).

In verletzten Gewebsbereichen und im Operationsfeld kommt es zu diffusen Blutungen. Bedrohliche intrakranielle Blutungen und transfusionspflichtige intrathorakale und intraabdominelle Blutungen werden mit einer Häufigkeit von 5–12% bei DIC-Patienten beobachtet (Dhainaut et al. 2005).

### Thrombosen

Durch die Mikrothrombenbildung kommt es zu Mikrozirkulationsstörungen, die besonders die Funktion von gefäßreichen Organen wie Lunge, Niere und Leber beeinträchtigen. Meist besteht durch die DIC-auslösende Erkrankung schon eine Organdysfunktion, die durch die DIC weiter verstärkt wird und häufig zum Multiorganversagen führt. Im Bereich der Akren können Mikrozirkulationsstörungen auftreten, die bis zur nekrotischen Abstoßung führen.

Thrombosen der großen Gefäße können zusammen mit einer DIC auftreten, sind aber eher selten und nicht typisch (Toh u. Dennis 2005).

### 34.3.3 Diagnostik

Die DIC-Diagnostik soll den Verdacht auf das Vorliegen einer DIC verifizieren und den Schweregrad und die Dynamik der Hämostasestörung erfassen. Dadurch soll der Krankheitsverlauf und die Wirksamkeit von therapeutischen Maßnahmen beurteilt werden. Aufgrund der Komplexität der zur DIC führenden Hämostasestörung auf der einen Seite und der Limitierungen der zur Verfügung stehenden Testverfahren auf der anderen Seite können diese Ziele nur partiell erreicht werden. Am besten können die beschriebenen Ziele durch eine Kombination von verschiedenen Testverfahren mit regelmäßigen Verlaufskontrollen und einer klinischen Bewertung erreicht werden.

Die zur Thrombinämie führende systemische Gerinnungsaktivierung ist ein zentraler Schritt in der Entwicklung einer DIC. Routinetaugliche Testverfahren, mit denen die Gerinnungsaktivierung und die Thrombinämie erfasst und quantifiziert werden können, existieren nicht. Eine Bestimmung des zellgebundenen und freien TF im Blut und der Nachweis von aktivierten Gerinnungsfaktoren sowie der Thrombinbildung ist zwar mit spezifischen Testverfahren möglich, diese sind jedoch zeitaufwendig und technisch anspruchsvoll, sodass eine klinisch zeitnahe Bestimmung nicht möglich ist.

Der Verbrauch von Thrombozyten und Gerinnungsfaktoren kann diagnostisch durch Bestimmung der Thrombozytenzahl und der Aktivität der Gerinnungsfaktoren im zeitlichen Verlauf abgebildet werden. Die Thrombozytopenie tritt meist sehr früh in der DIC-Entwicklung auf und gilt deswegen als ein sensitiver Parameter. Aufgrund vielfältiger anderer möglicher Thrombozytopenieursachen ist die Spezifität jedoch gering.

Die Globaltests sind v. a. durch den früh einsetzenden Mangel an Faktor V und der Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren pathologisch. Untersuchungen an Patienten mit dem Vollbild einer DIC haben gezeigt, dass nur bei etwa 30% signifikant erniedrigte Fibrinogenplasmaspiegel auftreten (Levi u. ten Cate 1999). Eine mögliche Erklärung ist eine krankheitsbedingte Steigerung der Fibrinogensynthese (Akute-Phase-Protein), die den erhöhten Fibrinogenumsatz zeitweilig kompensieren kann.

Das lösliche Fibrin und das D-Dimer gelten als Parameter, die mit einer Sensitivität zwischen 90 und 100% eine DIC erfassen können (Dempfle 1999; Carr et al. 1989). Die Spezifität beider Parameter ist jedoch gering, da Erhöhungen durch eine Vielzahl von anderen Erkrankungen induziert werden können.

In ◘ Tab. 34.6 sind zur DIC-Diagnostik eingesetzte Testverfahren in Bezug auf Sensitivität und Spezifität zusammengefasst.

Zur Standardisierung der DIC-Diagnostik wurden von einer Arbeitsgruppe der International Society of Thrombosis and Haemostasis (ISTH) und anderen Arbeitsgruppen Scores entwickelt, die auf der klinischen Wahrscheinlichkeit einer DIC und wenigen in Routinelaboren verfügbaren

**◘ Tab. 34.6.** DIC-Diagnostik

| Parameter | DIC-Wert | Zeitlicher Verlauf | Wertung |
|---|---|---|---|
| Thrombozytenzahl | <100.000/µl | Fallend | – Niedrige Spezifität<br>– hohe Sensitivität<br>– zur Diagnosestellung obligat |
| Blutausstrich | Fragmentozyten | | – Hinweisend<br>– DD: TTP/HUS |
| Aktivierte partielle Thromboplastinzeit | >1,5-fach | Zunehmende Verlängerung | – Zur Diagnosestellung obligat |
| Quick-Wert | <40% | Zunehmende Abnahme | – Zur Diagnosestellung obligat |
| Thrombin- und Reptilasezeit | Verlängert | Zunehmende Verlängerung | |
| Fibrinogen | <100 mg/dl | Fallend | – Zur Diagnosestellung obligat |
| Faktor-V-Aktivität | <50% | Fallend | – Hohe Sensitivität<br>– eingeschränkte Spezifität |
| Lösliches Fibrin | Stark erhöht | Ansteigend | – Hohe Sensitivität<br>– niedrige Spezifität |
| D-Dimer | >1 µg/ml | Ansteigend | – Zur Diagnosestellung obligat |
| Antithrombinaktivität | <40% | Abfallend | – Hohe Sensitivität<br>– niedrige Spezifität |

*TTP* thrombotisch-thrombozytopenische Purpura; *HUS* hämolytisch-urämisches Syndrom

**Tab. 34.7.** DIC-Score entsprechend den Kriterien der International Society of Thrombosis and Haemostasis (ISTH)

| Parameter | 0 Punkte | 1 Punkt | 2 Punkte |
|---|---|---|---|
| Thrombozytenzahl | >100.000/µl | <100.000/µl | <50.000/µl |
| Fibrinogenkonzentration | >100 mg/dl | <100 mg/dl | – |
| Thromboplastinzeit (Quick-Wert) | >70% | <70% | <40% |
| D-Dimer-Konzentration | <500 ng/ml | >500 ng/ml | >5.000 ng/ml |
| Bewertung: <5 Punkte DIC unwahrscheinlich, Wiederholung der Bewertung in 6–24 h; ≥5 Punkte mit DIC vereinbar | | | |

Einzelparametern beruhen (Bakhtiari et al. 2004; Kobayashi et al. 1987). Validierungsuntersuchungen haben für diese Scores eine Spezifität und Sensitivität von 95% und besser ergeben (Gando 2006). In Tab. 34.7 ist der DIC-Score dargestellt.

Zur Adaptation an die Verhältnisse im deutschsprachigen Raum wird die Thromboplastinzeit in Prozent als Quick-Wert und nicht in Sekunden angegeben.

**! Eine obligate Voraussetzung für die Benutzung des Scores ist das Vorliegen einer zur Entwicklung einer DIC prädisponierenden Erkrankung (Tab. 34.4). Dadurch wird die klinische Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer DIC berücksichtigt.**

Ein Score-Ergebnis ≥5 Punkte spricht für das Vorliegen einer DIC, während ein Score-Ergebnis <5 Punkte das Vorliegen einer DIC unwahrscheinlich macht. Ein Score-Ergebnis <5 Punkte schließt das Vorliegen einer DIC nicht aus. Möglicherweise liegt bei Patienten mit diesen Ergebnissen eine beginnende DIC oder eine Gerinnungsaktivierung vor, die noch nicht zur DIC geführt hat (»non-overt DIC«). In diesen Fällen sollte eine weitere engmaschige Kontrolle der Gerinnungsparameter erfolgen.

In der vorliegenden Form erfasst der ISTH-DIC-Score die Dynamik des DIC-Geschehens nicht in Form einer eigenständigen Variablen. Ein Score, der dies berücksichtigt wurde von Kinasewitz entwickelt und validiert (Kinasewitz et al. 2005). In Ergänzung zum APACHE-II-Score ist der DIC-Score geeignet, einen Hinweis auf das Mortalitätsrisiko zu geben (Angstwurm et al. 2006).

### 34.3.4 Therapie

Die Behandlung der Grunderkrankung ist die einzige Möglichkeit, die DIC-auslösende Gerinnungsaktivierung komplett und dauerhaft zu unterbrechen. Therapeutische Maßnahmen, die unmittelbar das Gerinnungssystem beeinflussen, werden eingesetzt, um den klinischen Verlauf einer DIC so zu stabilisieren, dass eine Behandlung der Grunderkrankung ermöglicht wird. Bei Patienten mit einem hohen Risiko zur DIC-Entwicklung besteht zudem das Ziel, die Ausbildung einer DIC zu verhindern.

Unter der Vorstellung, die DIC-auslösende überschießende Gerinnungsaktivierung durch eine Stärkung des endogenen Inhibitorpotenzials zu korrigieren, wurden rekombinanter (r) »tissue factor pathway inhibitor« (TFPI), Antithrombinkonzentrat und rekombinantes aktiviertes Protein C (APC) sowie aus Plasma gereinigtes Protein-C-Konzentrat bei Patienten mit schwerer Sepsis und bei Patienten mit DIC eingesetzt.

Die Rationale, rTFPI zur Prophylaxe und Behandlung einer DIC einzusetzen, besteht darin, die TF-vermittelte Gerinnungsaktivierung bereits auf der TF-Ebene zu kontrollieren. Untersucht wurde die rTFPI-Wirkung bei Patienten mit schwerer Sepsis (Abraham et al. 2001, 2003). In der 28-Tage-Überlebensrate und in der Häufigkeit des Auftretens einer DIC zeigten sich keine Unterschiede. Inwieweit die rTFPI-Gabe trotzdem in der Behandlung einer DIC möglicherweise in Kombination mit anderen Inhibitoren einen positiven Effekt erzielen würde, ist bisher nicht untersucht.

Die Wirksamkeit einer Antithrombinsubstitution zur DIC-Behandlung wurde in einem multizentrischen und placebokontrollierten prospektiven Studiendesign in einem Kollektiv von Patienten mit Sepsis überprüft. Die Patienten der Verumgruppe erhielten eine hoch dosierte Antithrombinsubstitution mit Zielwerten >150%. Das Ergebnis zeigte keinen Einfluss einer Antithrombinsubstitution auf die Mortalitätsrate nach 28 Tagen (Warren et al. 2001). Die Auswertung einer Subgruppe von Patienten mit klinisch manifester DIC zeigte jedoch eine signifikant bessere Überlebenschance der antithrombinsubstituierten Patienten, wenn diese nicht parallel mit Heparin behandelt wurden (Kienast et al. 2006).

Durch die Gabe von Protein C und aktiviertem Protein C konnte im Baboon-Modell der durch E. coli induzierten Sepsis ein signifikant besseres Überleben erzielt werden (Taylor et al. 1987). Ausgehend von diesen Ergebnissen wurde die Wirksamkeit eines rekombinanten APC-Konzentrats in der Behandlung der Sepsis untersucht (Bernard 2001). Durch die Substitution von rAPC konnte die Morta-

lität von 30,8% in der Placebogruppe auf 24,7% gesenkt werden (Bernard 2001). Den größten Benefit von einer APC-Substitution zeigten Patienten mit einer DIC (Dhainaut et al. 2004). In einer Fallkontrollstudie konnte gezeigt werden, dass die APC-Substitution bei DIC-Patienten die Thrombinämie unterbrechen kann und dadurch eine Rekonstitution des Hämostasepotenzials ermöglicht (De Pont et al. 2005). Trotz dieser Studienergebnisse ist der Einsatz von rAPC in der sepsisassoziierten DIC noch nicht etabliert. Gründe sind die durch rAPC gesteigerte Blutungsneigung und der Wirksamkeitsbeweis in Folgestudien und im klinischen Alltag.

Der Stellenwert von Antikoagulanzien in der DIC-Behandlung ist unklar. Im tierexperimentellen Ansatz konnte gezeigt werden, dass Heparine, direkte Thrombininhibitoren und andere direkt wirkende Antikoagulanzien den DIC-Verlauf positiv beeinflussen (du Toit et al. 1991; Slofstra et al. 2005; Pernerstorfer et al. 1999). In Kasuistiken und in kleineren Fallserien wird über einen positiven Effekt einer niedrig dosierten Heparintherapie berichtet (Corrigan 1977; Feinstein 1982). Demgegenüber zeigten in der AT-Studie nur die DIC-Patienten einen signifikanten Überlebensvorteil, die keine begleitende Heparintherapie erhielten (Kienast et al. 2006). Erst weitere Studien können zeigen, ob eine niedrig dosierte Gabe eines unfraktionierten Heparins den DIC-Verlauf günstig beeinflussen kann.

Plasma enthält alle Gerinnungsfaktoren und Inhibitoren in einem physiologischen Verhältnis. Es ist deswegen vorstellbar, dass durch die Substitution von Plasma ein Mangel an Gerinnungsfaktoren korrigiert und eine Dysbalance zwischen prokoagulatorischer und antikoagulatorischer Aktivität ausgeglichen werden kann. Daten aus kontrollierten Studien über den Stellenwert einer Plasmasubstitution bei DIC-Patienten liegen nicht vor. In kleineren Fallserien konnte gezeigt werden, dass durch die Substitution von Plasma die Hämostasesituation verbessert werden kann (Colman u. Rubin 1990).

**! Bei DIC-Patienten mit therapiepflichtiger Blutung ist die Gabe von Plasma, Gerinnungsfaktorenkonzentraten und Thrombozytenkonzentraten indiziert (Mannucci u. Levi 2007). Eine oft befürchtete Verschlechterung der DIC-Symptomatik tritt durch diese Maßnahmen nicht auf.**

Sogar aktivierter Faktor VII wurde bei DIC-Patienten erfolgreich eingesetzt ohne, dass es zu einer Verschlimmerung der DIC-Symptomatik kam (Levi et al. 2005).

Der Stellenwert von Antifibrinolytika zur Behandlung der DIC-induzierten Hyperfibrinolyse ist nicht systematisch untersucht. Es ist jedoch anzunehmen, dass durch eine Blockade der fibrinolytischen Aktivität die thrombotische Mikrozirkulationsstörung verstärkt und die Wiedereröffnungsrate verschlossener Gefäßregionen negativ beeinflusst wird. Deswegen wird eine antifibrinolytische Therapie in der akuten DIC nicht empfohlen. Eine Ausnahme bildet die durch eine Promyelozytenleukämie induzierte DIC und die chronische DIC, wie sie z. B. beim Kasabach-Merritt-Syndrom auftritt (Avvisati 1989; Ontachi et al. 2005). In diesen Fällen steht die Hyperfibrinolyse im Vordergrund, die durch eine antifibrinolytische Therapie mit Tranexamsäure oder ε-Aminocapronsäure behandelt werden kann.

In Tab. 34.8 sind Empfehlungen zur DIC-Therapie zusammengefasst. In der akuten DIC sollte ein Absinken der AT-Aktivität unter 50% durch die Substitution von Antithrombin vermieden werden. Der zur Errechnung der Substitutionsdosis angesetzte Zielwert wird mit 100% angesetzt. Bei auftretendem Volumenmangel erscheint die Gabe von FFP sinnvoll. Der Stellenwert einer rAPC-Gabe bei einer sepsisassoziierten DIC ist noch unklar.

Kommt es während einer DIC zu einer therapiepflichtigen oder bedrohlichen Blutung, wird eine Substitution mit FFP, PPSB, Fibrinogen, Antithrombin und Thrombozyten empfohlen. Angestrebt werden Zielbereiche für den

**Tab. 34.8.** Empfehlungen zur DIC-Therapie in Ergänzung zur Therapie der Grunderkrankung

| Klinische Konstellation | Therapiemaßnahme | Evidenz |
|---|---|---|
| Akute DIC ohne therapiepflichtige Blutung | Falls AT <50%: Gabe von AT-Konzentrat mit Zielwert 100% | Expertenempfehlung |
| | Bei Volumenmangel: Gabe von FFP | Expertenempfehlung |
| | Bei schwerer Sepsis: Substitution mit rAPC | IIA |
| Akute DIC mit therapiepflichtiger Blutung | Substitution von FFP, PPSB, Fibrinogen, AT und Thrombozyten | Expertenempfehlung |
| Chronische DIC | Antifibrinolytische Therapie mit TXA: 50–100 mg/kgKG/h oder 3-mal 1 g oral | Einzelfallberichte, Expertenempfehlung |
| »Non-overt DIC« | Vor Eingriffen: Gabe von FFP | Expertenempfehlung |

*AT* Antithrombin; FFP »fresh frozen plasma«; *PPSB* Prothrombinkomplexkonzentrat; *TXA* Tranexamsäure

Quick-Wert von 40–60%, für Fibrinogen von 100–150 mg/dl, für Thrombozyten von 50.000–100.000/µl und für Antithrombin von 50–100%.

Während der DIC und nach Überwindung der Akutsituation ist die Lebersynthese von Gerinnungsfaktoren und die Hämatopoese stark gesteigert. Zur Vermeidung einer Synthesestörung wird deswegen die Gabe von Vitamin K (10 mg/Tag) und von Folsäure empfohlen.

## Literatur

Abraham E, Reinhart K, Svoboda P et al. (2001) Assessment of the safety of recombinant tissue factor pathway inhibitor in patients with severe sepsis: a multicenter, randomized, placebo-controlled, single-blind, dose escalation study. Crit Care Med 29: 2081–2089

Abraham E, Reinhart K, Opal S et al. (2003) Efficacy and safety of tifacogin (recombinant tissue factor pathway inhibitor) in severe sepsis: a randomized controlled trial. JAMA 290: 238–247

Angstwurm MWA, Dempfle CE, Spannagl M (2006) New disseminated intravascular coagulation score: a useful tool to predict mortality in comparison with acute physiology and chronic health evaluation II and logistic organ dysfunction scores. Crit Care Med 34: 314–320

Avvisati G, ten Cate JW, Büller HR et al. (1989) Tranexamic acid for control of haemorrhage in acute promyelocytic leukamia. Lancet 2: 122–124

Bakhtiari K, Meijers JC, de Jonge E et al. (2004) Prospective validation of the International Society of Thrombosis and Haemostasis scoring system for disseminated intravascular coagulation. Crit Care Med 32: 2416–2421

BarbuiT, Falanga A (2001) Disseminated intravascular coagulation in acute leukaemia. Semin Thromb Hemost 27: 593–604

Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF et al.; Recombinant human protein C Worldwide Evaluation in Severe Sepsis (PROWESS) study group. (2001) Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. N Engl J Med 344: 699–709

Bone RC (1994) Gram-positive organisms and sepsis. Arch Intern Med 154: 26–34

Carr JM, McKinney M, McDonagh J (1989) Diagnosis of disseminated intravascular coagulation: role of D-Dimer. Am J Clin Pathol 91: 280–287

Colman RW, Rubin RN (1990) Disseminated intravascular coagulation due to malignancy. Semin Oncol 17: 172–186

Corrigan JJ Jr (1977) Heparin therapy in bacterial septicemia. J Pediatr 91: 695–700

De Pont AC, Bakhtiari K, Hutten BA et al. (2005) Recombinant human activated protein C resets thrombin generation in patients with severe sepsis: A case control study. Crit Care 9: R490–R497.

Dhainaut JF, Yan SB, Joyce DE et al. (2004) Treatment effects of drotrecogin alfa (activated) in patients with severe sepsis with or without overt disseminated intravascular coagulation. J Thromb Haemost 2: 1924–1933

Dhainaut JF, Shorr AF, Macias WL et al. (2005) Dynamic evolution of coagulopathy in the first day of severe sepsis: relationship with mortality and organ failure. Crit Care Med 33: 341–348

Dempfle CE (1999) The use of soluble fibrin in evaluating the acute and chronic hypercoagulable state. Thromb Haemost 82: 673–683

du Toit H, Coetzee AR, Chalton DO (1991) Heparin treatment in thrombin-induced disseminated intravascular coagulation in the baboon. Crit Care Med 19: 1195–1200

Feinstein DI (1982) Diagnosis and management of disseminated intravascular coagulation: the role of heparin therapy. Blood 60: 284–287

Gando S, Sawamura A, Hayakawa M, Hoshino H, Kubota N, Oshiro A (2006)First day dynamic changes in antithrombin III activity after supplementation have a predictive value in critically ill patients. Am J Hematol 81: 907–14

Gando S, Nakanisihi Y, Tedo I (1995) Cytokines and plasminogen activator inhibitor-1 in posttrauma disseminated intravascular coagulation: relationship to multiple organ dysfunction syndrome. Crit Care Med 23: 1835–1842

Kienast J, Juers M, Wiedermann CJ et al. (2006) Treatment effects of high-dose antithrombin with concomitant heparin in patients with severe sepsis with or without disseminated intravascular coagulation. J Thromb Haemost 4: 90–97

Kinasewitz GT, Zein JG, Lee GL (2005) Prognostic value of a simple evolving disseminated intravascular coagulation score in patients with severe sepsis. Crit Care Med 33: 2214–2221

Kobayshi N, Maekawa T, Takada M et al. (1987) Criteria for diagnosis of DIC based on the analysis of clinical and laboratory findings in 345 DIC patients collected by the research committee on DIC in Japan. Bibl Haematol 49: 848–852

Levi M, van der Poll T, ten Cate H et al. (1997) The cytokine-mediated imbalance between coagulant and anticoagulant mechanisms in sepsis and endotoxaemia. Eur J Clin Invest 27: 3–9

Levi M, ten Cate H (1999) Disseminated intravascular coagulation. N Engl J Med 341: 586–592

Levi M, de Jonge E, van der Poll T (2001) Rationale for restoration of physiological anticoagulant pathways in patients with sepsis and disseminated intravascular coagulation. Crit Care Med 29: S90–S94

Levi M (2002) The imbalance between tissue factor and tissue factor pathway inhibitor in sepsis. Crit Care Med 30: 1914–1915

Levi M, Peters M, Buller HR (2005) Efficacy and safety of recombinant factor VIIa for the treatment of severe bleeding: a systematic review. Crit Care Med 33: 883–890

Levi M, van der Poll T, ten Cate H (2006) Tissue factor in infection and severe inflammation. Semin Thromb Hemost 32: 33–39

Levi M (2007) Disseminated intravascular coagulation. Crit Care Med 35: 2191–2195

Mannucci PM, Levi M (2007) Prevention and treatment of major blood loss. N Engl J Med 356: 2301–2311

McCarron BI, Marder VJ, Francis CW (1999) Reactivity of soluble fibrin assays with plasmic degradation products of fibrin and in patients receiving fibrinolytic therapy. Thromb Haemost 82: 1722–1729.

Ontachi Y, Asakura H, Arahata M et al. (2005) Effect of combined therapy of danaparoid sodium and tranexamic acid on chronic disseminated intravascular coagulation associated with abdominal aortic aneurysm. Circ J 69: 1150–1153

Pernerstorfer T, Hollenstein U, Hansen J et al. (1999) Heparin blunts endotoxin-induced coagulation activation. Circulation 100: 2485–2490

Slofstra SH, van´t Veer C, Buurman WA et al. (2005) Low molecular weight heparin attenuates multiple organ failure in a murine model of disseminated intravascular coagulation. Crit Care Med 33: 1455–1457

Taylor FBJ, Chang A, Esmon CT et al. (1987) Protein C prevents the coagulopathic and lethal effects of Escherichia coli infusion in the baboon. J Clin Invest 79: 918–925

Taylor FBJ Chang A, Ruf W et al. (1991) Lethal E. coli septic shock is prevented by blocking tissue factor with monoclonal antibody. Circ Shock 33: 127–134

Ten Cate H, Timmerman JJ, Levi M (1999) The pathophysiology of disseminated intravascular coagulation. Thromb Haemost 82: 713–717

Toh CH, Dennis M (2005) Disseminated intravascular coagulation: old disease, new hope. BMJ 327: 974–977

Warren BL, Eid A, Singer P et al. (2001) Caring for the critically ill patient: high-dose antithrombin III in severe sepsis. A randomized controlled trial. JAMA 286: 1869–1878

Weiner CP (1986) The obstetric patient and disseminated intravascular coagulation. Clin Perinatol 13: 705–717

## 34.4 Myeloproliferative Erkrankungen

*E. Lengfelder*

### Einleitung

Den chronischen myeloproliferativen Erkrankungen liegt ein Defekt der hämatopoetischen Stammzelle zugrunde, der zu einer unkontrollierten Proliferation einer oder mehrerer Zellreihen der Hämatopoese führt. Der Krankheitsverlauf ist chronisch und immer irreversibel. Arterielle und venöse Thromboembolien stellen die häufigsten Komplikationen dar und führen nicht selten zur Diagnosestellung.

Probleme der fortgeschrittenen Erkrankung, zumeist nach Jahren, sind der Übergang in eine akute Leukämie oder Myelofibrose. Durch die Entdeckung molekularer Marker, insbesondere die JAK2V617F-Mutation, ist es bei einem Teil der Fälle möglich geworden, die chronischen myeloproliferativen Erkrankungen eindeutig von reaktiven Zuständen abzugrenzen.

Die Therapieziele sind bislang palliativ und auf die Kontrolle bzw. Reduktion der gesteigerten Myeloproliferation ausgerichtet. Angriffspunkt zukünftiger Therapieentwicklungen ist der direkte Ansatz am molekularen Defekt (»targeted therapy«) mit dem Ziel, den malignen Klon möglichst unmittelbar und umfassend zu reduzieren.

### 34.4.1 Einleitung und Definition



Chronische myeloproliferative Erkrankungen (CMPE) sind neoplastische Erkrankungen der hämatopoetischen Stammzelle, die durch einen chronischen und immer irreversiblen Verlauf gekennzeichnet sind. Charakteristisch ist eine autonome Proliferation von zumeist mehreren Zellreihen des Knochenmarks. Zu den CMPE zählen:

- die chronische myeloische Leukämie (CML), einschließlich BCR-ABL-negativer Sonderformen,
- die Polycythaemia vera (PV),
- die essenzielle Thrombozythämie (ET),
- die chronische idiopathische Myelofibrose (IMF, Synonyme: Osteomyelosklerose, primäre Myelofibrose, myeloische Metaplasie mit Myelofibrose).

Die meisten Entitäten der CMPE, v. a. die PV, ET und IMF, können sich in ihrem klinischen Bild ähneln, sind aber aufgrund festgelegter Diagnosekriterien und durch Unterschiede im Krankheitsverlauf voneinander abgrenzbar. Die CML wird durch den Nachweis der Translokation t(9;22) (Philadelphia-Chromosom) bzw. des entsprechenden BCR-ABL-Fusionsgens belegt und als separate Entität der CMPE abgegrenzt. Daneben gibt es weitere myeloproliferative Krankheitsbilder, welche die Definitionskriterien der genannten Erkrankungen nur teilweise erfüllen oder Überlappungen zu den Myelodysplasien (MDS) zeigen.

Bei den einzelnen Entitäten steht die klonale Proliferation einer oder mehrerer Zellreihen der Hämatopoese (Leuko-, Erythro- und/oder Thrombozytose) im Vordergrund und bestimmt das klinische Bild. Gemeinsame Kennzeichen der CMPE sind ein im Vergleich zur Normalbevölkerung erhöhtes Risiko eines Übergangs in eine akute Leukämie und eine mehr oder weniger ausgeprägte Tendenz zur Entwicklung einer Myelofibrose mit Splenomegalie. Häufigste Komplikationen, insbesondere bei ET und PV, sind arterielle und venöse Thromboembolien.

### 34.4.2 Pathogenese

Die genaue Ursache der CMPE ist nicht bekannt. In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle von CMPE lässt sich eine klonale Hämatopoese nachweisen. Klonalitätsanalysen bei der ET haben jedoch ergeben, dass bei dieser Entität nur etwa zwei Drittel der Patienten eine klonale Hämatopoese haben, sodass offen ist, welche pathogenetische Bedeutung der Klonalität bei den CMPE zukommt.

In jüngster Vergangenheit wurde eine erworbene, mit verschiedenen Formen von CMPE assoziierte Punktmutation (JAK2V617F) im JAK2-Gen (Janus-Kinase-2-Gen) entdeckt (James et al. 2005). Das JAK2-Gen kodiert für eine zytoplasmatisch lokalisierte Tyrosinkinase. Die JAK2V617F-Mutation wird bei über 90% der Patienten mit Polycythaemia vera nachgewiesen. Sie wird auch bei jeweils 50% der ET- und IMF-Patienten gefunden und ist außerdem vereinzelt bei selteneren Entitäten der CMPE nachweisbar (Jones et al. 2005).

**! Das Vorhandensein der Mutation beweist somit die klonale myeloproliferative Erkrankung, trägt aber nicht zur exakten differenzialdiagnostischen Abgrenzung der einzelnen Subtypen bei.**

Die JAK2V617F-Mutation führt zu einer konstitutionellen, von den üblichen Regulationsmechanismen unabhängigen Zellproliferation. Ungeklärt ist, warum eine singuläre Punktmutation zur Ausbildung phänotypisch unterschiedlicher Erkrankungen führt bzw. welche zusätzlichen Faktoren für die unterschiedlichen klinischen Bilder und Verläufe verantwortlich sind. Nach bisherigen Theorien könnten sowohl die Menge, als auch die Zeitdauer des Vorhandenseins der JAK2-Mutation bzw. weitere, bislang noch unbekannte genetische Veränderungen bei der Ausbildung unterschiedlicher Phänotypen der CMPE eine Rolle spielen. Unklar ist auch, ob der Nachweis der JAK2-Mutation eine prognostische Bedeutung hat.

Bei einer Reihe von früher unklassifizierbaren Fällen von CMPE zeigte sich, dass auch andere durch reziproke Translokationen bzw. Gen-Rearrangierungen deregulierte Tyrosinkinasen (z. B. PDGFRα, PDGFRβ, FGFR1) eine pathogenetische Bedeutung besitzen (Apperley et al. 2002; Cross u. Reiter 2002; Gotlib et al. 2004). Der Nachweis der abnormalen Transkripte mittels RT-PCR (»reverse transcriptase-polymerase chain reaction) und FISH (Fluoreszenz-in-situ-Hybridsierung) hat nicht nur einen diagnostischen Stellenwert, sondern auch eine unmittelbare therapeutische Konsequenz, wenn spezifische am molekularen Defekt ansetzende Medikamente verfügbar sind.

## 34.4.3 Klinik und Diagnostik

### Gemeinsamkeiten des klinischen Verlaufs

PV, ET und IMF sind Erkrankungen des höheren Lebensalters. Der Zeitpunkt der Diagnose liegt zumeist im 5. und 6. Lebensjahrzehnt, die Inzidenz bei etwa 1–2 zu 100.000 pro Jahr. CMPE kommen nur sehr selten bei Kindern und Jugendlichen vor. Sie erfordern hier eine besonders sorgfältige Diagnosesicherung mit Abgrenzung hereditärer, phänotypisch ähnlicher Formen. Wenn die CMPE im jüngeren und mittleren Lebensalter beginnt, ist die Überlebenszeit wegen geringerer Komorbidität länger als bei älteren Menschen, die relative krankheitsbezogene Mortalität aber höher. Dennoch kann bei der ET und PV zumindest bei den älteren Patienten bei guter Kontrolle der hämatologischen Parameter von einer nahezu normalen Lebenserwartung ausgegangen werden. Demgegenüber beträgt die mediane Überlebenszeit der Patienten mit IMF nur etwa 4,5 Jahre (Cervantes et al. 1998; Tefferi 2000).

Die CMPE beginnen in der Regel schleichend, zum Teil mit einer mehrere Jahre andauernden asymptomatischen Primärphase. Die einzelnen Krankheitsbilder zeigen eine charakteristische Konstellation hämatologischer und klinischer Befunde und werden nach ihren Hauptmerkmalen unterschieden. Bei manchen Fällen ist zum Diagnosezeitpunkt noch keine sichere Zuordnung zu einem bestimmten Subtyp der CMPE möglich. Man spricht in diesem Stadium von einer »nicht klassifizierbaren CMPE«. In der Regel führt der weitere Verlauf zur Ausprägung der phänotypischen Merkmale und lässt dann die Diagnose einer der genannten Formen zu.

**! Häufigste klinische Symptome der CMPE, insbesondere der ET und PV, sind arterielle und venöse Thromboembolien der großen Gefäße und Mikrozirkulationsstörungen.**

Im arteriellen System stehen kardiovaskuläre und zerebrale Gefäßverschlüsse im Vordergrund. Bei den Lokalisationen im venösen System sind neben den Extremitäten v. a. auch viszerale Gefäße betroffen (Milz- und Lebervenen, V. cava [Budd-Chiari Syndrom], Lungenembolie).

Mikrozirkulationsstörungen äußern sich typischerweise als periphere Durchblutungsstörungen an Händen und Füßen, Schwindel, Kopfschmerzen und Sehstörungen. Bei einer lokalen schmerzhaften Überwärmung und einer marmorierten Rötung an Handflächen, Unterschenkeln oder Fußsohlen spricht man von einer Erythromelalgie. Im Extremfall können Nekrosen insbesondere im Bereich der Fingerkuppen und Zehenspitzen auftreten.

Bei der PV begünstigt der erhöhte Hämatokrit die Entstehung von Thrombosen. Bei allen CMPE mit thrombozythämischem Verlauf, insbesondere bei der ET, tragen sowohl die erhöhte Thrombozytenzahl als auch der gleichzeitige Funktionsdefekt der Thrombozyten zum Auftreten von Thrombosen bei.

**Cave**

Paradoxerweise kann neben der Thromboseneigung auch eine erhöhte Blutungsneigung bestehen.

Potenziell bedrohliche Blutungen werden v. a. bei sehr hohen Thrombozytenzahlen ($1–1{,}5\times10^6/\mu l$) beobachtet, da diese Thrombozyten verstärkt Von-Willebrand-Faktor-Multimere an sich binden, was zu einer sekundären Von-Willebrand-Erkrankung führen kann. Auch die Thrombozytopathie kann das Auftreten von Blutungskomplikationen begünstigen.

Die zunehmende Markfibrose mit Ausbildung einer zum Teil exzessiven Splenomegalie ist Leitsymptom der IMF. Eine Markfibrose kann sich aber auch bei allen anderen CMPE entwickeln. Sie entsteht hier zumeist langsam über Jahre und stellt in der Regel ein spätes Stadium dar.

Eine weitere Spätkomplikation der CMPE ist der Übergang in eine akute Leukämie.

Der chronische, häufig stadienhafte Verlauf der CMPE bedingt, dass sich das klinische Bild der Erkrankung stark verändern kann und dass zu verschiedenen Zeitpunkten unterschiedliche Komponenten und Probleme in den Vordergund rücken, was differenzialdiagnostisch und therapeutisch zu berücksichtigen ist.

### Allgemeine Diagnostik

Die erforderlichen diagnostischen Maßnahmen bei den CMPE sind in Tab. 34.9 zusammengefasst. Ziel dieser Untersuchungen ist neben der Diagnosesicherung und möglichst genauen Klassifizierung auch die Erfassung individueller Risiko- und Prognosefaktoren sowie die Charakterisierung des malignen Klons mittels konventioneller Zytogenetik und moderner molekulargenetischer Methoden.

Der Nachweis der JAK2V617F-Mutation belegt zweifelsfrei die klonale myeloproliferative Erkrankung. Weitere diagnostische Marker für CMPE sind die Überexpression des Polycythaemia-vera-rubra-Gens (PRV1-Gen) in reifen Neutrophilen und die Bildung erythropoetischer Kolonien im Erythropoetin-(EPO-)freien Milieu. Diese 3 Marker werden bei den CMPE zumeist konkordant gefunden (bei 90% der Patienten mit PV und bei jeweils 50% der Patienten mit ET und IMF (Klippel et al. 2003; Bench u. Pahl 2005; James et al. 2005; Jones et al. 2005).

Die histologische Untersuchung des Knochenmarks stellt die einzige Methode dar, die eine Beurteilung der Fibrosierung des Marks erlaubt, was einen wichtigen diagnostischen und differenzialdiagnostischen Beitrag darstellt (Tefferi 2000).

Trotz des Einsatzes einer breiten Diagnostik sind die eindeutige Zuordnung zu einer der definierten Entitäten der CMPE und die Abgrenzung von anderen Erkrankungen des Knochenmarks oder reaktiven Zuständen oft erst im Verlauf möglich. Insbesondere kann die sichere Abgrenzung der IMF von einer Markfibrose im Rahmen jeder anderen CMPE, von Formen des MDS mit Markfibrose, von der akuten Myelofibrose (Megakaryoblastenleukämie, AML FAB M7) sowie einer sekundären Markfibrose im Rahmen von anderen Neoplasien, chronischen Infektionen oder toxischen Schäden des Knochenmarks im Einzelfall schwierig sein. Die histologische Abgrenzung der ET von frühen Formen der IMF mit erhöhter Thrombozytenzahl und noch sehr diskreter Markfibrose ist durch erfahrene Hämatopathologen möglich. Diese Frühstadien von chronischer IMF

**Tab. 34.9.** Diagnostik bei CMPE

| Bereich | Erfasste Parameter |
|---|---|
| Anamnese | – Klinische Symptome<br>– andere Erkrankungen |
| Klinische Untersuchung | – Leber- und Milzgröße<br>– extramedulläre Manifestationen<br>– Mikrozirkulationsstörungen |
| Laboruntersuchungen | – Zellzählung (Leukozyten, Thrombozyten, Erythrozyten, Hämoglobin, Hämatokrit), Differenzialblutbild<br>– ALP-Index<br>– Transaminasen, alkalische Phosphatase, Bilirubin<br>– Elektrolyte (Achtung: bei Thrombozytose Pseudohyperkaliämie im Serum)<br>– Kreatinin, Harnsäure<br>– Laktatdehydrogenase<br>– Erythropoetin |
| Knochenmarkzytologie und Knochenmarkhistologie | Eisen- und Faserfärbung |
| Zytogenetik | Nachweis numerischer oder struktureller Chromosomenveränderungen |
| Molekulargenetische Untersuchungen (z. B. RT-PCR, FISH) | Nachweis bzw. Ausschluss spezifischer molekularer Marker (V617FJAK2-Mutation, Exon-12-Mutationen, FIP1L1-PDGFRα und β, BCR-ABL) |
| Unter Therapie | – Kontrollen von Zytogenetik und quantitativer RT-PCR<br>– arterielle Sauerstoffsättigung und Erythropoetinspiegel (PV)<br>– Thrombozytenfunktionsuntersuchungen (ET, PV, Abgrenzung von reaktiven Thrombozytosen)<br>– Sonographie des Abdomens zur Beurteilung von Leber- und Milzgröße und weiterer extramedullärer Manifestationen |

ALP alkalische Leukozytenphosphatase; *FISH* Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung; *RT-PCR* »reverse transcriptase-polymerase chain reaction«

(CIMF-0) wurden in der Vergangenheit der ET zugeordnet und sind mit einer wesentlich günstigeren Lebenserwartung verbunden als die klassische Form der IMF.

Auch in manchen Fällen von ET und PV ist auf der Basis der WHO-Kriterien eine eindeutige Zuordnung zu einer der beiden Entitäten nicht möglich (Tefferi et al. 2007). Neuere Daten weisen darauf hin, dass Patienten mit JAK2V617F-positiver ET signifikant höhere Hb-, Leukozyten- und Thrombozytenwerte haben als mit negativer, sodass diese Konstellation möglicherweis eine Übergangsform zwischen den beiden Entitäten darstellt (Campbell et al. 2005).

Zur Einschätzung des individuellen Thromboembolie- bzw. Blutungsrisikos erwiesen sich weder die Messung der Blutungszeit noch die Durchführung von Untersuchungen der Thrombozytenfunktion als hilfreich, da die Veränderungen dieser Parameter nicht mit den Komplikationen korrelierte. In einer Reihe von Kohortenstudien fand sich kein Hinweis auf eine Assoziation von Ursachen einer angeborenen Thrombophilie mit ET oder PV, sodass ein Thrombophilie-Screening nur bei besonders schweren Verläufen angebracht erscheint.

### Spezielle klinische Charakteristika und Diagnostik bei ET, PV und IMF

Die ET ist durch eine chronische Thrombozytose charakterisiert, bedingt durch eine Vermehrung von atypisch geformten Megakaryozyten im Knochenmark. Die Funktionsstörung der Thrombozyten ist mit einem gesteigerten Risiko sowohl für Thromboembolien als auch für Blutungskomplikationen verbunden. Die Mehrzahl der Patienten ist bei Diagnosestellung asymptomatisch, und die Erkrankung wird aufgrund von Routinekontrollen des Blutbilds entdeckt. Die ET hat die günstigste Prognose der CMPE und geht nur selten in eine akute Leukämie über. Der individuelle Verlauf wird ganz entscheidend durch das Auftreten thrombohämorrhagischer Komplikationen bestimmt. In einer Reihe von heterogenen Patientenkollektiven der Literatur wurden Mikrozirkulationsstörungen bei etwa einem Drittel der Patienten beobachtet, arterielle und venöse Thrombosen bei durchschnittlich 30% und Blutungskomplikationen bei durchschnittlich 17%.

Die Diagnosekriterien der ET sind in Ermangelung spezifischer diagnostischer Marker in erster Linie darauf ausgerichtet, andere CMPE mit thrombozythämischer Komponente und eine reaktive Thrombozytose möglichst sicher auszuschließen. Die in der Vergangenheit von der Polycythaemia Vera Study Group (PVSG) letztlich willkürlich festgesetzte untere Thrombozytengrenze von 600.000/µl führt jedoch dazu, dass Frühstadien und Fälle von ET mit niedrigeren Thrombozytenzahlen nicht erfasst werden, obwohl bereits klinische Symptome vorliegen können (Lengfelder et al. 1998).

Die von der WHO im Jahre 2007 aktualisierten Diagnosekriterien reduzierten den Grenzwert auf ≥450.000/µl und schließen den Nachweis der gesteigerten Megakaryopoese in der Knochenmarkhistologie mit ein (siehe Übersicht). Auch bei der ET und IMF gehört die Bestimmung der JAK2V617F-Mutation inzwischen zur Basisdiagnostik und geht in die Diagnosekriterien mit ein (Tefferi et al. 2007).

**WHO-Diagnosekriterien der ET**

- Thrombozytenzahl ≥450.000/µl
- Knochenmark mit überwiegender Proliferation der Megakaryopoese und gesteigerter Anzahl vergrößerter, reifer Megakaryozyten ohne signifikante Steigerung oder Linksverschiebung der Granulopoese oder Erythropoese
- kein Vorliegen von PV, IMF, CML oder MDS nach den WHO-Kriterien
- Nachweis der JAK2V617F-Mutation oder in Abwesenheit eines klonalen Markers vorhandener Nachweis, dass die Thrombozytose nicht reaktiv ist

Die Diagnose ET erfordert das Vorliegen aller 4 Kriterien.

Bei der PV liegt zumeist eine gesteigerte Proliferation aller 3 Zellreihen, der Erythropoese, Granulopoese und Megakaryopoese, vor, wobei die Hyperplasie der Erythropoese im Vordergrund steht. Charakteristisch für die PV ist die Ausbildung unterschiedlicher Krankheitsstadien: asymptomatische Frühphase, plethorabedingte Beschwerden, Juckreiz und thromboembolische Komplikationen (ca. 40%), Übergang in Myelofibrose (ca. 25%) und Übergang in akute Leukämie (bis etwa 10%; Berk et al. 1981; Najean et al. 1993; Gruppo Italiano Studio Polycythemia vera 1995).

Die von der WHO in jüngerer Zeit überarbeiteten Diagnosekriterien der PV bauen auf den herkömmlichen Kriterien der Polycythemia Vera Study Group (PVSG) auf (Tefferi et al. 2007). Als zusätzliche Diagnosekriterien wurden folgende Parameter neu eingeführt: die Berücksichtigung charakteristischer morphologischer Veränderungen des Knochenmarks (Panmyelose), die erythropoetinunabhängige Proliferation der Erythropoese in vitro, erniedrigter Erythropoetinspiegel und der Nachweis von klonalen zytogenetischen Aberrationen. Auch die JAK2-Mutation wird in neue Klassifikationen der PV und anderer CMPE aufgenommen werden (siehe Übersicht).

**WHO-Diagnosekriterien der PV**

- Hauptkriterien:
  - Hämoglobin >18,5 g/dl bei Männern, >16,5 g/dl bei Frauen oder andere Evidenz einer gesteigerten Erythrozytenmasse
  - Nachweis der JAK2V617F-Mutation oder einer anderen funktionell ähnlichen Mutation (z. B. JAK2-Mutation im Exon 12)
- Nebenkriterien
  - Hyperzellularität mit gesteigerter Erythropoese, Granulopoese und Megakaryopoese
  - niedriger Erythropoetinspiegel
  - Nachweis von endogenen erythroiden Kolonien in vitro

Die Diagnose PV wird gestellt, wenn beide Hauptkriterien oder wenn das erste Hauptkriterium und 2 Nebenkriterien vorliegen.

Leitsymptom der IMF ist eine zunehmende Fibrosierung des Knochenmarks mit gleichzeitig einhergehender hämatopoetischer Insuffizienz (siehe Übersicht). In der Frühphase findet sich im Knochenmark eine Veränderung aller 3 Zellreihen mit ineffektiver Erythropoese, Hyperplasie einer dysplastischen Megakaryopoese und Vermehrung unreifer Vorstufen der Granulopoese. Im späteren Stadium sind die Markräume fibrosiert (Retikulin- und/oder Kollagenfibrose) und zum Teil auch knöchern durchgebaut (Osteomyelosklerose).

Charakteristisch sind eine extramedulläre Blutbildung, v. a. in der zum Teil extrem vergrößerten Milz, aber auch in anderen Organen, sowie das Auftreten von verformten Erythrozyten und Normoblasten im peripheren Blutausstrich. Klinisch rücken im Verlauf Anämiesymptome mit zunehmendem Tranfusionsbedarf sowie Infekt- und Blutungsneigung durch Leukozytopenie und Thrombozytopenie in den Vordergrund. Bei etwa 20% der Patienten mit IMF entwickelt sich eine akute Leukämie. Zur Einschätzung der individuellen Prognose wurden verschiedene Scores entwickelt.

**WHO-Diagnosekriterien der IMF**

- Hauptkriterien:
  - gesteigerte und atypische Megakaryopoese üblicherweise mit Retikulin- und/oder Kollagenfibrose oder bei fehlender Retikulinfibrose Nachweis einer Hyperzellularität mit gesteigerter Granulopoese und verminderten erythrozytären Vorstufen (präfibrotische IMF)
  - keine PV, CML, MDS oder andere CMPE nach WHO
  - Nachweis der JAK2V617F-Mutation oder eines anderen klonalen Markers, bei nicht nachweisbarem klonalen Marker Nachweis, dass die Myelofibrose nicht reaktiv ist (Infektion, Autoimmunerkrankung, Malignom)
- Nebenkriterien:
  - leukoerythroblastisches Differenzialblutbild
  - erhöhte Serumlaktatdehydrogenase
  - Anämie
  - tastbare Milz

Die Diagnose einer IMF liegt vor, wenn alle 3 Hauptkriterien und 2 Nebenkriterien erfüllt sind.

## 34.4.4 Therapie

### Therapieziele und Behandlungsmöglichkeiten

Die Zielsetzung bei der Therapie der Philadelphia-Chromosom- und BCR-ABL-negativen CMPE ist in erster Linie palliativ. Im Vordergrund steht die Reduktion von krankheitsbedingten Symptomen und Komplikationen sowie die Verzögerung und Vermeidung des Krankheitsprogresses. In Anbetracht der überwiegend günstigen Prognose und des oft asymptomatischen Verlaufs sollte die Therapie mit möglichst wenig akuten Nebenwirkungen und Spätfolgen verbunden sein.

Zur Zytoreduktion stehen verschiedene Substanzen zur Verfügung. Alkylanzien und Radiophosphor ($^{32}$P) sind zwar gut wirksam, wurden aber wegen ihres leukämogenen Potenzials weitgehend verlassen (Berk et al. 1981). Hydroxyurea (HU) stellt derzeit das am breitesten bei den CMPE eingesetzte Medikament dar. Neuere Therapieansätze basieren auf herkömmlichem und pegyliertem Interferon (IFN). Anagrelide führt zur isolierten Senkung der Thrombozyten bei allen CMPE. Aderlässe oder die seltener angewandte Erythrozytapherese dienen der raschen Absenkung des Hämatokrit bei der PV. Thrombozytenaggregationshemmer (Acetylsalicylsäure) können die Rate vaskulärer Komplikationen beeinflussen, halten aber das Fortschreiten der Grunderkrankung nicht auf.

Indikationen zur Einleitung einer zytoreduktiven Therapie bei PV, ET und in der hyperproliferativen Phase der IMF sind in erster Linie Thromboembolien, Blutungskomplikationen, stark erhöhte Thrombozytenwerte, hohe Aderlassfrequenz bei PV sowie kontinuierliche Zunahme der Milz- und Lebergröße. Klinische Symptome wie Krankheitsaktivität, Fieber, Nachtschweiß und Leistungsminderung können sich unter proliferationshemmender Therapie bessern. Höheres Lebensalter, vorausgegangene Thromboembolien und Blutungskomplikationen sowie eine Throm-

bozytenzahl von 1–1,5×10^6/µl gelten insbesondere bei der ET als Indikation zur Absenkung der Thrombozytenzahl möglichst in den Normalbereich. Jüngere, asymptomatische Patienten in frühen Stadien der ET profitieren wahrscheinlich nicht von einer zytoreduktiven Therapie.

Supportive Therapiemaßnahmen (Substitution von Blutprodukten, Prophylaxe und Behandlung von Infektionen) stehen v. a. bei der fortgeschrittenen IMF mit peripherer Zytopenie im Vordergrund. Bei Patienten mit IMF werden kurzfristige Besserungen unter Therapie mit Kortikosteroiden und Androgenen beobachtet. Angiogenesehemmer, z. B. Thalidomid und neuere Vertreter dieser Substanzgruppe, können den Transfusionsbedarf reduzieren. Bei IMF bzw. im Spätstadium der PV können im Einzelfall bei sehr großer Milz mit Beschwerden und hohem Transfusionsbedarf eine Splenektomie oder sehr niedrig dosierte Milzbestrahlung erwogen werden.

Die einzige kurative Therapieform der BCR-ABL-negativen CMPE ist die allogene Knochenmark- bzw. periphere Blutstammzelltransplantation. Bei relativ hoher transplantationsassoziierter Mortalität wird die allogene Verwandten- oder Fremdspendertransplantation gegenwärtig nur bei jüngeren Patienten mit ungünstigem Krankheitsverlauf empfohlen, wobei hier die IMF im Vordergrund steht. Nach neueren Daten kann die transplantationsassoziierte Mortalität im Rahmen von Konzepten mit reduzierter Konditionierung gesenkt werden.

Hinsichtlich der notwendigen Optimierung und Standardisierung der Therapie der CMPE sollte hervorgehoben werden, dass die lange Verlaufsdauer insbesondere bei der ET und PV die Durchführung kontrollierter Therapiestudien erschwert und eine kurzfristige Einschätzung neuerer Therapieverfahren nicht erlaubt.

## Besonderheiten einzelner Substanzen und Behandlungsverfahren

**Aderlass-Therapie.** Die Aderlasstherapie ist die Therapie der Wahl zur raschen Absenkung des Hämatokrits bei der PV. Ziel ist die Einstellung des Hämatokrits auf Normalwerte unter Erreichen einer eisendefizitären Hämatopoese. Als Langzeittherapie ist eine alleinige Aderlasstherapie nur bei etwa 10% der Patienten mit PV praktikabel, die wahrscheinlich eine Subgruppe mit wenig aggressivem Krankheitsverlauf repräsentieren (Najean et al. 1993). Die Mehrzahl der Patienten benötigt zur Kontrolle der Myeloproliferation bzw. der Komplikationen eine zusätzliche zytoreduktive Therapie. Der Nachteil von alleiniger Aderlasstherapie im Vergleich zu zytoreduktiver Therapie liegt in einer höheren Rate an Myelofibrose und Thromboembolien.

**Hydroxyurea.** Hydroxyurea (HU) kann die gesteigerte Myeloproliferation bei PV, ET und in der hyperproliferativen Frühphase der IMF kontrollieren. Der Einsatz von Hydroxyurea wird kontrovers diskutiert, da unter der Kombination bzw. sequenziellen Gabe von Alkylanzien oder Radiophosphor ($^{32}P$) und Hydroxyurea eine gesteigerte Rate von sekundären Leukämien gegenüber alleiniger Therapie mit Hydroxyurea beobachtet wurde. Bei Patienten, die ausschließlich Hydroxyurea erhalten hatten, ergibt sich kein sicherer Hinweis auf das vermehrte Auftreten von Leukämien, sodass HU weiterhin als zytoreduktives Standardtherapeutikum bei den CMPE gilt (Cortelazzo et al. 1995; Finazzi et al. 2000). Ziel der zytoreduktiven Therapie ist ein Hämatokrit von 40–45% bei der PV und Thrombozyten unter 400.000/µl bei der ET und PV.

**Interferon α.** Interferon α (IFN) ist in Deutschland zur Therapie der BCR-ABL-negativen CMPE nicht zugelassen, wird aber dennoch erfolgreich zur Kontrolle der Myeloproliferation eingesetzt. Es ist zurzeit die einzige Substanz, die zu einer nachhaltigen Suppression des malignen Klons führen und Langzeitremissionen zum Teil auch ohne Fortsetzung der Therapie induzieren kann. Leukämogene und teratogene Effekte von IFN sind nicht bekannt. Mit einer Initialdosis von durchschnittlich 3-mal 3 Mio. IE IFN pro Woche kann neben einem Rückgang oder Sistieren der Aderlassbedürftigkeit bzw. einer Absenkung der Thrombozytenzahl auch eine Kontrolle aller anderen myeloproliferativen Parameter erzielt werden. Die Zeit bis zum Ansprechen liegt zumeist zwischen 1–3 Monaten. Besonders gut wirksam ist IFN bei mit der PV assoziiertem Pruritus (Lengfelder et al. 1997, 2000).

**Anagrelide.** Anagrelide (Xagrid®, Thromboreductin®) ist ein Imidazoquinazolinderivat, welches ursprünglich als Thrombozytenaggregationshemmer entwickelt wurde. Der thrombozytenreduzierende Effekt durch eine Hemmung der Megakaryozytenreifung setzt bereits bei einer niedrigeren Dosierung ein als die Hemmung der Thrombozytenfunktion, sodass die Substanz zur Thrombozytensenkung bei den CMPE gegeben wird. Anagrelide ist in Deutschland derzeit zur Zweitlinientherapie der Hochrisko-ET unter dem Namen Xagrid® zugelassen. Als Initialdosis von Anagrelide wird 1 mg pro Tag empfohlen, wobei die Dosierung im weiteren Verlauf an das individuelle Ansprechen anzupassen ist. Da Anagrelide nicht auf die Erythropoese und Granulopoese wirkt, ist bei der PV in der Regel eine Kombinationstherapie mit einer weiteren zytoreduktiven Substanz oder mit Aderlässen erforderlich. Hauptnebenwirkungen sind Flüssigkeitsretention, gastrointestinale, kardiale und neurologische Symptome (Anagrelide Study Group 1992).

In der kürzlich publizierten randomisierten britischen PT1-Studie wurde HU plus ASS mit Anagrelide plus ASS verglichen und die Zuverlässigkeit der thrombozytensenkenden Wirkung in beiden Therapiearmen belegt. Die Studie ergab auch, dass Anagrelide und ASS wegen des erhöhten Blutungrisikos nicht kombiniert werden sollten (Harrison et al. 2005).

**Weitere zytoreduktive Substanzen.** Alkylanzien (Chlorambucil, Busulfan) und Radiophosphor ($^{32}P$) sollten aufgrund der relativ hohen Rate an therapieassoziierten akuten Leukämien und Sekundärneoplasien nur noch eingesetzt werden, wenn andere zytoreduktive Therapieformen nicht angewendet werden können (Berk et al. 1981). Pipobroman wird v. a. in Südeuropa und Frankreich anstelle von Hydroxyurea eingesetzt. Das Wirkungsspektrum und die Rate an sekundären Leukämien entsprechen weitgehend Hydroxyurea.

Imatinib hat nach aktuellen Berichten auch bei der PV einen antiproliferativen Effekt. Es kann die Aderlassfrequenz senken und auch die anderen myeloproliferativen Parameter bei einem Teil der Patienten kontrollieren.

**Thrombozytenaggregationshemmer.** Hohe Dosen ASS (900 mg/Tag) waren in einer Studie der PVSG mit einem erhöhten Blutungsrisiko verbunden (Tartaglia A et al. 1986). Niedrig dosiertes ASS (100 mg pro Tag) konnte in einer randomisierten europäischen Studie die Thromboembolierate bei Patienten mit PV gegenüber Placebo signifikant senken, ohne die Blutungskomplikationen zu erhöhen (Landolfi et al. 2004). Niedrig dosiertes ASS wird deshalb zur Primärprophylaxe von vaskulären Komplikationen bei der PV empfohlen. Bei den anderen CMPE wurden zur Primärprophylaxe keine Studien durchgeführt. Mikrozirkulationsstörungen sprechen auf ASS im Allgemeinen sehr schnell an. Bei bereits vorausgegangenen Blutungskomplikationen sollte ASS nicht bzw. nur nach sorgfältiger Abwägung der Risiken verabreicht werden.

**Substitution von Blutprodukte.** Bedarf an Substitution von Blutprodukten besteht fast immer bei fortgeschrittener IMF. Zumeist wird ein Hb <8 g/dl als Indikation zur Transfusion von Erythrozytenkonzentraten angesehen. Bei klinischer Symptomatik oder kardiopulmonalen Begleiterkrankungen ist die Indikation an die individuelle Situation anzupassen. Bei hohem Transfusionsbedarf soll ein Eisenentzug durch Chelatbildner durchgeführt werden. Thrombozytenkonzentrate sind in ausgewählten Fällen und bei Blutung indiziert.

## Literatur

Anagrelide Study Group (1992) Anagrelide, a therapy for thrombocythemic states. Experience in 577 patients. Am J Med 92: 69–76

Apperley J, Gardembas M, Melo J et al. (2002) Response to imatinib mesylate in patients with chronic myeloproliferative diseases with rearrangements of the platelet-derived growth factor receptor beta. N Engl J Med 347: 481–487

Bench A, Pahl H (2005) Chromosomal and molecular markers in myeloproliferative disorders. Semin Hematol 42: 196–205

Berk PD, Goldberg JD, Silverstein MN et al. (1981) Increased incidence of acute leukemia in polycythemia vera associated with chlorambucil therapy. N Engl J Med 304: 441–447

Campbell P, Scott L, Buck G et al. (2005) Definition of subtypes of essential thrombocythemia and relation to polycythemia vera based on JAK2V617F mutation ststus: a prospective study. Lancet 366: 1945–1953

Cervantes F, Barosi G, Demory J et al. (1998) Myelofibrosis with myeloid metaplasia in young individuals: disease characteristics, prognostic factors and identification of risk Groups. Brit J Haematol 102: 684–690

Cortelazzo S, Viero P, Bellavita P et al. (1995) Hydroxyurea for patients with essential thrombocythemia and a high risk of thrombosis. N Engl J Med 332: 1132–1136

Cross NC, Reiter A (2002) Tyrosine kinase fusion genes in chronic myeloproliferative diseases. Leukemia 16: 1207–1212

Finazzi G, Ruggeri M, Rodeghiero F et al. (2000) Second malignancies in patients with essential thrombocythemia treated with busulphan and hydroxyurea: long-term follow up of a randomized trial. Brit J Haematol 110: 577–583

Gotlib J, Cools J, Malone J et al. (2004) The FIP1L1-PDGFRα fusion tyrosine kinase in hypereosinophilic syndrome and chronic eosinophilc leukemia: implications for diagnosis, classification and management. Blood 103: 2879–2891

Gruppo Italiano Studio Polycythemia vera (1995) The natural history of 1213 patients followed for 20 years. Ann Intern Med 123: 656–664

Harrison CN, Campbell PJ, Buck G et al. (2005) United Kingdom Medical Research Council Primary Thrombocythemia 1 Study. Hydroxyurea compared with anagrelide in high-risk essential thrombocythemia. N Engl J Med 353: 33–45

James C, Ugo V, Couédic J et al. (2005) A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. Nature 434: 1144–1148

Jones A, Kreil S, Zoi K et al. (2005) Widespread occurrence of the JAK2V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders. Blood 106: 2162–2168

Klippel S, Strunck S, Temerinac S et al. (2003) Quantification of PRV-1 mRNA distinguishes polycythemia vera from secondary erythrocytosis. Blood 102: 3569–3574

Landolfi R, Marchioli R, Kutti J et al. (2004) Efficacy and safety of low dose aspirin in polycythemia vera. N Engl J Med 350: 114–124

Lengfelder E, Griesshammer M, Hehlmann R (1997) Interferon-alpha in the treatment of essential thrombocythemia. Leukemia and Lymphoma 22 (Suppl 1): 135–142

Lengfelder E, Hochhaus A, Kronawitter U et al. (1998) Should a platelet limit of 600 *10 9/l be used as a diagnostic criterion in essential thrombocythemia? An analysis of the natural course including early stages. Brit J Haematol 100: 15–23

Lengfelder E, Berger U, Hehlmann R (2000) Interferon treatment of polycythemia vera. Ann Hematol 79: 103–109

Najean Y, Dresch C, Rain JD (1993) The very-long-term course of polycythemia: a complement to the previously published data of the polycythemia vera study group. Brit J Haematol 86: 233–235

Tartaglia A, Goldberg JD, Berk PD, Wasserman LR (1986) Adverse effects of antiaggregating platelet therapy in the treatment of polycythemia vera. Semin Hematol 23: 172–176

Tefferi A, Thiele J, Orazio A et al. (2007) Proposals and rationale for revision of the World Health Organization diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocythemia, and primary myelofibrosis: recommendation from an ad hoc international expert panel. Blood 110: 1092–1097

Tefferi A (2000) Myelofibrosis with myeloid metaplasia. N Engl J Med 342, 1255–1265

Thiele J (2005) Prefibrotic and classical chronic idiopathic myelofibrosis or myelofibrosis with myeloid metaplasia/ agnogenic myeloid metaplasia. In: Michiels JJ, Kvasnicka MM, Thiele J (Hrsg.) Myeloproliferative disorders. Bad Honnef: Grunwald, S 62–83

## 34.5 Veno-occlusive disease (VOD)

*T. Neuhaus, D. U. Bayraktar*

### Einleitung

Die »veno-occlusive disease« (VOD) ist eine vaskuläre Lebererkrankung, die durch eine toxische Schädigung der sinusoidalen Leberendothelzellen ausgelöst wird. Im weiteren Verlauf kommt es zu einem Verschluss der kleinen Lebervenen sowie zu einer Obstruktion der Sinusoide, weshalb alternativ die Bezeichnung »sinusoidales Obstruktionssyndrom« (SOS) geprägt wurde. Die VOD ist eine typische Komplikation der Hochdosischemotherapie mit hämatopoetischer Stammzelltransplantation.

Klinische Symptome der VOD sind schmerzhafte Leberschwellung, Gewichtszunahme, Ikterus und eine progrediente Leberinsuffizienz. Entsprechend des VOD-Verlaufs können 3 Schweregrade definiert werden, die Mortalität der VOD liegt in Abhängigkeit hiervon zwischen 3 und 98%. Eine standardisierte Therapie der VOD existiert nicht. Therapeutische Maßnahmen umfassen je nach klinischem Verlauf die Gabe von Heparin, allgemeine symptomatische Therapiemaßnahmen wie die Kontrolle des Elektrolyt- und Flüssigkeitshaushalts und die Gabe von Defibrotide.

Patienten mit einer vorbekannten Leberschädigung sind besonders prädisponiert, eine VOD zu entwickeln. Eine gesicherte VOD-Prophylaxe ist nicht bekannt, jedoch wird über protektive Effekte von Ursodeoxycholsäure, Heparin und Defibrotide berichtet.

### 34.5.1 Definition

Die »veno-occlusive disease« (VOD), auch als sinusoidales Obstruktionssyndrom (SOS) bezeichnet, ist eine potenziell lebensbedrohliche Komplikation der Hochdosischemotherapien mit Stammzelltransplantation, deren histopathologisches Korrelat die Obstruktion der kleinen Lebervenen und -sinusoide darstellt. Klinisch stehen eine Leberschwellung, die Ausbildung von Aszites und Ikterus sowie schließlich die Leberinsuffizienz im Vordergrund. Eine standardisierte oder kausale Therapie existiert aktuell nicht.

### 34.5.2 Pathogenese und Pathophysiologie

Auslöser für die VOD scheint eine Schädigung der sinusoidalen Endothelzellen und derjenigen Hepatozyten zu sein, die nah an der Zentralvene in der Zone 3 des Leberazinus liegen. In der Frühphase der VOD kommt es zu einem Verlust der endothelialen Schrankenfunktion (DeLeve et al. 1999). Histopathologisch findet sich ein subendotheliales Ödem, die Extravasation von Erythrozyten, die Ablagerung von Fibrin sowie die Expression von Faktor VIII und Von-Willebrand-Faktor (vWF) in der Wand kleiner Venen (Shulman et al. 1987).

Im weiteren Verlauf ist eine Dilatation der Sinusoide sowie eine Nekrotisierung der Hepatozyten nachzuweisen, gefolgt von einer Ablagerung der Kollagenfasern vom Typ I und III, einer Sklerose der Gefäßwände und einer Fibrosierung der Gefäßlumen (Shulman et al. 1994). Gleichzeitig kommt es zu einer Proliferation und Aktivierung der die Sinusoide begrenzenden Stellazellen (Sato et al. 1999). Diese sezernieren neben vasoaktiven Proteinen den Plasminogenaktivatorinhibitor Typ 1 (PAI-1), dem eine Schlüsselrolle in der Entwicklung der VOD zuzukommen scheint (Smith et al. 2006).

Ergänzend spiegeln das lokale Vorhandensein von Fibrin und des FVIII-vWF-Komplexes eine prothrombotische Aktivierung des Gerinnungssystems wider, was durch den Nachweis erniedrigter Protein-C- und Anthrombinspiegel im Plasma der Patienten unterstützt wird (Lee et al. 2002). Auch proinflammatorische Zytokine wie TNF-α oder die Interleukine 6 und 8 sind an der Entwicklung der VOD beteiligt (Ferra et al. 1998). Es resultieren ein Gefäßverschluss und die Obstruktion der Sinusoide, was über eine zusätzliche Ischämie in eine Leberschädigung und portale Hypertension mündet. Aufgrund der zentralen Rolle der sinusoidalen Endothelzellen in der Entwicklung einer VOD wurde 2002 von deLeve die Bezeichung »Sinusoidales Obstruktionssyndrom (SOS)« geprägt (deLeve et al. 2002).

Die Schädigung der sinusoidalen Leberendothelzellen ist toxisch bedingt. Die erste Publikation hierzu erschien bereits 1920 und beschrieb die Folgen einer Vergiftung mit Pyrrolizidinalkaloiden der Pflanze Senecio (Greiskraut) in Südafrika (Willmot u. Robertson 1920). Der Begriff VOD wurde erstmals in einer 1954 erschienen Arbeit verwandt, in der der Autor über eine nicht thrombotische, fibrös-obliterierende Entzündung der Zentralvenen berichtete, ausgelöst durch eine Intoxikation von Tees aus Senecio-Arten bei einer Gruppe jamaikanischer Kinder (Bras et al. 1954).

Erst mit dem Aufkommen der Hochdosischemotherapien, wie sie im Rahmen der hämatopoetischen Stammzelltransplantation eingesetzt werden, nahm die Inzidenz der VOD sprunghaft zu (Berk et al. 1979). Weitere, seltene Auslöser einer VOD sind beispielsweise Kontrazeptiva (Alpert 1976), Alkohol oder Strahlenschäden (Fajardo u. Colby 1980). Auch nach der Transplantation solider Organe wie Niere, Lunge oder Leber wird das Auftreten einer VOD gesehen, wobei offensichtlich Azathioprin das schädigende Agens darstellt (Sebagh et al. 1999).

Hauptauslöser im Kontext der Hochdosischemotherapien sind alkylierende Substanzen wie Busulfan, Carmustin oder Metabolite des Cyclophosphamids, deren Detoxifikation u.a. durch die Mitglieder der Zytochrom-P450-Familie und die Glutathion-S-Transferasen erreicht wird (El Mouehli u. Kaufmann 1986). Besonders reich an Zytochrom P450 sind Hepatozyten der Zone 3. Dementsprechend besteht die Vermutung, dass es über eine Erschöpfung der Enzymaktivität zur lokalen Akkumulation der hepatotoxischen Substanzen mit der Folge einer direkten Schädigung der sinusoidalen Endothelzellen kommen kann. Die Glutathionhypothese wird durch die Beobachtung unterstützt, dass im Mausmodell durch die kontinuierliche Infusion von Glutathion in die V. porta die Ausbildung einer VOD verhindert werden kann (Wang et al. 2000). Außerdem gehen Polymorphismen im Glutathion-S-Transferase-M1-Gen (GSTM1-Gen) mit einem erhöhten Risiko zur VOD-Entwicklung bei Thalässemiepatienten einher, die eine hämatopoetische Stammzelltransplantation benötigen (Srivastava et al. 2004).

Neben der hepatischen VOD gibt es auch eine pulmonale VOD (PVOD), die als seltene Ursache einer primären pulmonalen Hypertonie gilt (Rabiller et al. 2006). Histopathologisch kann eine fibrotische Okklusion der kleinen Lungenvenen nachgewiesen werden (Mandel et al. 2000). Die Ursachen der PVOD sind unklar. Neben einer vermuteten viralen Ätiologie wird die PVOD z. B. bei malignen hämatologischen Systemerkrankungen, nach Gabe von Chemotherapeutika sowie, als ausgeprägte Rarität, nach Stammzelltransplantation diagnostiziert (Williams et al. 1996).

### 34.5.3 Risikofaktoren

Einen Risikofaktor stellt eine vorbestehende Leberschädigung dar. In einem Kollektiv von 1.652 Patienten, die eine hämatopoetische Stammzelltransplantation erhielten, erhöhte sich das relative Risiko, eine VOD zu entwickeln, um den Faktor 2,4, wenn vor Transplantation eine Erhöhung der Transaminasen vorlag, und um den Faktor 2,9, wenn vor Transplantation eine Strahlentherapie unter Einschluss der Abdominalregion vorgenommen wurde (Carreras et al. 1998). Offensichtlich gibt es sogar eine Korrelation zwischen der Höhe der Transaminasen und der Schwere der VOD (McDonald et al. 1993). Ebenso erhöhte das Vorhandensein von Lebermetastasen bei Vorliegen einer soliden Tumorerkrankung das VOD-Risiko (Ayash et al. 1990). Ob eine Hepatitis-C-Infektion auch ohne Erhöhung der Transaminasen das VOD-Risiko steigen lässt, ist aufgrund divergierender Studienergebnisse zurzeit noch nicht abschließend zu beantworten (Strasser et al. 1999; Rodriguez-Inigo et al. 1997).

**! Entscheidenden Einfluss auf das VOD-Risiko haben die Art und die Dosis der zur Konditionierung eingesetzten Medikamente, aber auch das Transplantat selbst.**

Die Inzidenz der VOD ist insbesondere erhöht bei Patienten, die Cyclophosphamid in Kombination mit Busulfan erhalten (Carreras et al. 1998), und auch eine Ganzkörperbestrahlung mit mehr als 12 Gy geht mit einem gestiegenen VOD-Risiko einher (Clift et al. 1990).

Während bei einer Transplantation mit Stammzellen, die aus dem peripheren Blut gewonnen wurden, das VOD-Risiko niedriger ist als bei Transplantaten, die aus dem Knochenmark extrahiert wurden (Fisher et al. 1998), steigt die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer VOD mit der Disparität hinsichtlich des humanen Leukozytenantigen (HLA) zwischen Transplantatspender und -empfänger (Dulley et al. 1987). Auch kann die Art der immunsuppressiven Therapie zur Prophylaxe der GVHD-Auswirkungen (GVHD=»graft versus host disease«) haben auf das VOD-Risiko, das beispielsweise unter einer Kombination von Methotrexat mit Cyclosporin höher ist als unter Cyclosporin und Prednisolon (Essell 1992).

Weiterhin beeinflussen die vor Stammzelltransplantation verabreichten Medikamente das VOD-Risiko. So kann eine Therapie mit dem Calicheamicin-konjugierten monoklonalen Anti-CD33-Antikörper Gemtuzumab (Ozogamicin), der in der Behandlung der akuten myeloischen Leukämie eingesetzt wird, das VOD-Risiko deutlich erhöhen (Wadleigh et al. 2003). Auch die Gabe von Vancomycin oder Aciclovir vor Transplantation geht mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung einer VOD einher, wobei jedoch unklar ist, ob die zur Therapie führende Erkrankung oder

die Behandlung mit den Medikamenten das VOD-Risiko erhöhen. Auch Frauen, die mit Norethisteron behandelt werden, um Menstruationsblutungen während der Transplantationsphase zu unterbinden, haben ein gesteigertes VOD-Risiko (Hagglund et al. 1998).

Weitere Risikofaktoren sind höheres Lebensalter, eine reduzierte pulmonale $CO_2$-Diffusionskapazität und eine bereits vorausgegangene Stammzelltransplantation (McDonald et al. 1993; Matute-Bello et al. 1998). Auch genetische Faktoren wie das Vorliegen des Hämochromatose-Allels C282Y, des GSTM1-Null-Genotyps, der F-V-Leiden- und der Prothrombin-G20210A-Mutation begünstigen die Entwicklung einer VOD.

### 34.5.4 Klinik und Diagnostik

Typischerweise tritt eine VOD 10–21 Tage nach Stammzelltransplantation, selten später, und im Mittel 9 Wochen nach Transplantation solider Organe auf. Charakterisiert ist sie durch die Kombination schmerzhafte Leberschwellung, Ikterus, Gewichtszunahme und Aszites (Wadleigh et al. 2003). Wesentlich ist der Ausschluss anderer Differenzialdiagnosen, die insbesondere die akute »graft versus host«-Reaktion, die sepsisassoziierte Cholangitis, die medikamenteninduzierte Hepatitis, virale Hepatitiden und die kardiogene Stauungshepatitis umfassen.

Um die Diagnosesicherheit zu erhöhen, finden 2 klinische Kriterienscores Anwendung, der Seattle- und der Baltimore-Score (siehe Übersicht).

**Seattle-Kriterien (McDonald et al. 1984)**

- Hyperbilirubinämie
- schmerzhafte Hepatomegalie
- Aszites
- nicht erklärbare Gewichtszunahme

Die Entwicklung von mindestens 2 Symptomen innerhalb von 30 Tagen nach einer Hochdosischemotherapie machen das Vorliegen einer VOD wahrscheinlich.

**Baltimore-Kriterien (Jones et al. 1987)**

- Entwicklung einer Hyperbilirubinämie mit Anstieg des Serumbilirubins >2 mg/dl innerhalb von 21 Tagen nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation
- zusätzlich mindestens 2 der folgenden 3 klinischen Zeichen und Symptome:
  - schmerzhafte Hepatomegalie
  - Gewichtszunahme von 5% und mehr bezogen auf das Ausgangsgewicht
  - Aszites

Die Evaluation des Seattle-Score hat gezeigt, dass bei 41% (2 der Seattle-Kriterien erfüllt) bzw. 91% (3 der Seattle-Kriterien erfüllt) der Patienten histologisch die Diagnose VOD bestätigt werden konnte (Carreras et al. 1993). Wurden die Baltimore-Kriterien erfüllt, konnte die VOD-Diagnose bei 91% der Patienten gesichert werden. Die Sensitivität beider diagnostischer Kriterien wird mit 56% angegeben (Carreras et al. 1993).

Die Bildgebung mittels Ultraschall, CT und/oder MRT dient dem Nachweis der Hepatomegalie und des Aszites und ist nicht zuletzt aus differenzialdiagnostischen Überlegungen wichtig. Dopplersonographisch kann ein verminderter oder retrograder Portalvenenblutfluss gefunden werden. Den diagnostischen Goldstandard, wenngleich er nicht regelhaft zum Einsatz kommt, stellt die transvenöse Leberbiopsie mit Messung des venösen Druckgradienten dar. Er ist bei der VOD mit einer Spezifität und einer Sensitivität von über 85% auf >10 mmHg erhöht (Shulman et al. 1995). Ein vor kurzem publizierter diagnostischer Marker scheint der plasmatische PAI-1-Antigenlevel zu sein (Pihusch et al. 2005), bei Werten über 120 ng/ml beträgt seine Sensitivität 100% und die Spezifität 30%. Ebenso werden erhöhte Spiegel für Prokollagen III und den Tumormarker CA12-5 gefunden (Rio et al. 1993; Petäjä et al. 2000).

In Abhängigkeit vom Schweregrad der VOD, deren Verlaufsform in 3 Gruppen unterteilt werden kann, liegt die Mortalität zwischen 3% und 98% (Meresse et al. 1992; Ayash et al. 1990). Patienten mit einer milden Verlaufsform benötigen in der Regel keine spezifische Therapie und zeigen innerhalb von 100 Tagen eine vollständige Normalisierung der Leberfunktion. Die Mortalität der milden Verlaufsform liegt zwischen 3 und 9% (McDonald et al. 1993). Auch bei der mittelschweren Verlaufsform kommt es zu einer Normalisierung der Leberfunktion, allerdings ist eine supportive Therapie mit Diuretika und Analgetika erforderlich, die Mortalität liegt bei etwa 20%.

Patienten mit schwerer Verlaufsform unterscheiden sich von den Patienten mit leichter und mittelgradiger Verlaufsform in Bezug auf die Gewichtszunahme, den Anstieg und die absolute Konzentration des Serumbilirubins und die Häufigkeit, mit denen Ödeme und Aszites auftreten (◘ Tab. 34.11; Mc Donald et al. 1993.) Die Mortalität ist in dieser Patientengruppe sehr hoch und kann bis zu 98% betragen.

Der klinische Verlauf der VOD ist offensichtlich wesentlich vom Ausmaß der Leberschädigung abhängig. Durch die Einschränkung der Lebersynthesekapazität kommt es zu einer plasmatischen Gerinnungsstörung, die zusammen mit der meist bestehenden Thrombozytopenie das gesteigerte Blutungsrisiko erklärt.

**Tab. 34.10.** Klinische Parameter der Patienten mit VOD in Abhängigkeit von der Schwere des Verlaufs

| Parameter | Mild | Moderat | Schwer |
|---|---|---|---|
| Gewichtszunahme (%) | 7,0±3,5 | 10,1±5,3 | 15,5±9,2 |
| Höchster Bilirubinwert bis 20 Tage nach Transplantation (mg/dl) | 4,73±2,9 | 7,95±6,6 | 26,15±15,3 |
| Patienten mit peripheren Ödemen (%) | 23 | 70 | 85 |
| Patienten mit Aszites (%) | 5 | 16 | 48 |
| Anzahl der Thrombozytentransfusionen bis 20 Tage nach Transplantation | 53,8±27,6 | 83,6±5,0 | 118,3±51,8 |
| 100-Tages-Mortalität (%) | 3 | 20 | 98 |
| Angegeben sind die Mittelwerte ± Standardabweichung | | | |

**! Dementsprechend haben VOD-Patienten einen signifikant höheren Transfusionsbedarf an Thrombozyten als Patienten mit vergleichbarer Grunderkrankung, aber ohne VOD (Rio et al. 1986).**

### 34.5.5 Prophylaxe

Vor dem Hintergrund fehlender etablierter und v. a. effektiver Therapien der VOD (MacQuillan u. Mutimer 2004) kommt der Prophylaxe eine herausragende Bedeutung zu. Zwar gibt es keine Maßnahme, mit der sich die Entwicklung einer VOD sicher vermeiden ließe, es existieren jedoch Daten – zum Teil allerdings widersprüchliche – zu verschiedenen vorbeugenden Behandlungskonzepten.

Zunächst sollte bei Patienten mit einem hohen VOD-Risiko die Indikation zur myeloablativen Therapie besonders streng gestellt und nach Alternativen gesucht werden.

**! Bleibt die Indikation zur Hochdosistherapie mit Stammzelltransplantation bestehen, sollte, um das VOD-Risiko zu senken, Busulfan intravenös verabreicht und die Dosis über ein Monitoring der Serumspiegel so niedrig wie möglich gehalten werden.**

Des Weiteren sollte das Intervall zwischen der Ganzkörperbestrahlung und der Zytostatikagabe so lang wie möglich ausgeweitet und die Leberregion einer möglichst geringen Strahlenbelastung ausgesetzt werden (Carreras 2000).

Die Gabe von Ursodeoxycholsäure (UDCA) vor und während der Hochdosischemotherapie hat in 2 Studien mit einem randomisierten, prospektiven und placebokontrollierten Design die VOD-Rate senken können (Ohashi et al. 2000; Essell 1998). Diese Ergebnisse konnten in einer neueren Studie (Ruutu et al. 2002) nicht bestätigt werden. UDCA wird gut vertragen und ist weitgehend nebenwirkungsfrei, weswegen es trotz der nicht eindeutigen Datenlage großzügig zur VOD-Prophylaxe eingesetzt wird.

Nicht abschließend geklärt ist die Frage, ob die Gabe von Heparin die Inzidenz der VOD zu senken vermag. Zwei Studien zeigten, dass unter einer kontinuierlichen Infusion von unfraktioniertem Heparin in niedriger Dosierung die VOD signifikant seltener auftrat (Attal et al. 1992; Rosenthai et al. 1996). Auch 2 weitere Studien, in denen niedermolekulares Heparin zum Einsatz kam, beschrieben einen präventiven Effekt durch die Antikoagulation (Or et al. 1996; Forrest et al. 2003). Dem gegenüber blieb in einer anderen randomisierten Studie dieser Benefit aus, jedoch wurde hier mit der Heparingabe erst am Tag der Transplantation und nicht, wie in den anderen Studien, bereits mit der Applikation der vorbereitenden Therapie begonnen (Marsa-Vila et al. 1991). Zwei weitere, allerdings nicht randomisierte Studien konnten ebenfalls keinen positiven Effekt durch die Gabe von Heparin aufzeigen (Carreras et al. 1998; Hagglund et al. 1998).

Dem Glutathionstoffwechsel und konkret dem Erschöpfen der intrazellulären Glutathionbestände wird eine Bedeutung in der Pathogenese der VOD zugewiesen, sodass die Steigerung der Glutathionlevel protektiv wirken müsste. In einer aktuellen Arbeit mit 160 Patienten konnte eine VOD durch die prophylaktische Gabe von N-Acetyl-L-Cystein (NAC), einem Glutathionpräkursor, jedoch nicht vermieden werden (Barkholt et al. 2008).

Positive Daten liegen für Defibrotide, einem einzelsträngigen Polydeoxyribonukleotid, das bei der VOD bereits in therapeutischer Intention Anwendung findet (▶ Kap. 34.5.6), nun auch in der VOD-Prophylaxe vor. Defibrotide besitzt entzündungshemmende, antithrombotische und thrombolytische Eigenschaften (Bacher et al. 1993; Ulutin et al. 1993).

**! Bisher liegen 3 Arbeiten vor, in denen einheitlich die protektive Wirkung der prophylaktischen Gabe von Defibrotide beschrieben wird (Chalandon et al. 2004; Versluys et al. 2004; Dignan et al. 2007).**

Basierend auf diesen Daten wird Defibrotide in einzelnen Transplantationszentren bereits eingesetzt, Ergebnisse randomisierter Studien stehen jedoch noch aus.

### 34.5.6 Therapie

Eine evidenzbasierte kausale Therapie der VOD ist ebenso wenig verfügbar wie eine Konsensusempfehlung. In Abhängigkeit vom Schweregrad erfolgt die Therapie symptomatisch. In den meisten VOD-Fällen ist eine Bilanzierung der Flüssigkeitszufuhr in Kombination mit der Gabe von Diuretika und einer salzarmen Diät ausreichend. Aszitespunktionen können beispielsweise bei Beeinträchtigung der Atmung erforderlich werden. Hepatotoxisch, aber auch nephrotoxisch wirkende Arzneimittel sollten, wenn möglich, vermieden werden, und es ist darauf zu achten, Infektionen möglichst frühzeitig zu erkennen und schnellstmöglich zu behandeln. Ebenso sind eventuelle Pathologien des Gerinnungssystems zu korrigieren (Ho et al. 2007).

In verschiedenen Studien konnte eine Verbesserung des klinischen Zustands durch eine systemische und niedrig dosierte Lysetherapie mit rekombinantem »tissue-type plasminogen activator« (t-PA) und einer kontinuierlichen antikoagulatorischen Behandlung mit Heparin erzielt werden (Bearman et al. 1992, 1997; Leahy et al. 1996). Die Ansprechraten lagen bei etwa 30–40%. Einen entscheidenden Nachteil der fibrinolytischen Therapie stellte jedoch das deutlich erhöhte Risiko für das Auftreten bedrohlicher Blutungen dar (Ringden et al. 1992; Hagglund et al. 1996). In einer Fallserie von 42 Patienten profitierten 12 Patienten von einer t-PA-Lyse mit kombinierter Heparintherapie, aber 10 Patienten entwickelten bedrohliche Blutungen, mit tödlichem Ausgang bei 3 Patienten (Bearmann et al. 1997). Vor dem Hintergrund dieser Zahlen kann eine Fibrinolysetherapie zur Behandlung der VOD nicht empfohlen werden.

Vielversprechende Daten liegen für Defibrotide vor. Seit der ersten Publikation 1998 (Richardson et al. 1998) sind mittlerweile etwa 300 Patienten zum Teil auch in Phase-II-Studien wegen einer VOD mit dieser Substanz behandelt worden (Chopra et al. 2000; Richardson et al. 2002, 2006; Bulley et al. 2006; Corbacioglu et al. 2004). Hierbei wurden Dosierungen zwischen 5 und 110 mg/kgKG pro Tag als intravenöse Applikation verwandt. Die Raten für eine komplette Rückbildung der VOD-Symptomatik lagen im Gesamtkollektiv zwischen 40 und 75%, und selbst bei Patienten mit einer schweren Verlaufsform und Multiorganversagen noch bei etwa 50%, nach 100 Tagen lebten 30–80% der Patienten.

Nebenwirkungen einer Behandlung mit Defibrotide beschränkten sich auf Erbrechen, eine reversible Hypotonie, Fieber, abdominelle Krämpfe sowie vasomotorische Symptome wie z. B. Hitzewallungen (Richardson et al. 2002).

**! Insgesamt scheint mit Defibrotide erstmals ein Medikament zur Verfügung zu stehen, das in der Lage ist, den Verlauf der VOD positiv zu beeinflussen.**

Darüber hinaus gibt es Publikationen mit kleinen Patientenzahlen bzw. Kasuistiken, in denen über den Einsatz verschiedener Substanzen zur Therapie der VOD berichtet wurde. So profitierten 10 Patienten mit einer schweren VOD-Verlaufsform von einer 5-tägigen Antithrombinsubstitution (Morris et al. 1997). Weiterhin wurde über den erfolgreichen Einsatz einer Behandlung mit Prostaglandin E1 in Kombination mit einer Heparingabe bei pädiatrischen Patienten mit VOD berichtet (Schlegel et al. 1998). Bei 3 Patienten führte die Gabe von N-Acetylcystein zur Normalisierung der erhöhten Bilirubinwerte (Ringden et al. 2000), und weitere 3 Patienten konnten erfolgreich mit Glutamin in Kombination mit Vitamin E behandelt werden (Goringe et al. 1998; Nattakom et al. 1995).

In anderen Arbeiten wird der Einsatz eines transjugulären intrahepatischen portosystemischen Shunts (TIPS) bei Patienten mit VOD beschrieben (Azoulay et al. 2000; Fried et al. 1996; Annaloro et al. 2004). Auch wenn mit diesem Vorgehen die portale Hypertension kontrolliert werden kann, bleibt offen, ob mit einer TIPS-Anlage auch der Verlauf der VOD positiv zu beeinflussen ist. Die orthotope Lebertransplantation gilt als Mittel der letzten Wahl bei Patienten mit schwerer VOD und einer geringen Überlebenswahrscheinlichkeit, jedoch sind deren Ergebnisse insgesamt eher enttäuschend (Hagglund et al. 1996; Nimer et al. 1990; Rapaport et al. 1991).

## Literatur

Alpert LI (1976) Veno-occlusive disease of the liver associated with oral contraceptives: case report and review of literature. Hum Pathol 7: 709–18

Annaloro C, Robbiolo L, Pozzoli E et al. (2004) Four-year survival after trans-jugular intrahepatic porto-systemic shunt für veno-occlusive disease following autologous bane marrow transplantation. Leuk Lymphoma 45: 1485–1487

Attal M, Huguet F, Rubie H et al. (1992) Prevention of hepatic veno-occlusive disease after bane marrow transplantation by continuous infusion of low-dose heparin: a prospective, randomized trial. Blood 79: 2834–2840

Ayash LJ, Hunt M, Antman K et al. (1990) Hepatic venoocclusive disease in autologous bane marrow transplantation of solid tumors and lymphomas. J Clin Oncol 8: 1699–1706

Azoulay D, Castaing D, Lemoine A et al. (2000) Transjugular intrahepatic portosystemic shunt (TIPS) for severe veno-occlusive disease of the liver following bone marrow transplantation. Bone Marrow Transplant 25: 987–92

Bacher P, Kindel G, Walenga JM et al. (1993) Modulation of endothelial and platelet function by a polydeoxyribonucleotide derived drug »defibrotide«. A dual mechanism in the control of vascular pathology. Thromb Res 70: 343–8

Barkholt L, Remberger M, Hassan Z et al. (2008) A prospective randomized study using N-acetyl-L-cysteine for early liver toxicity after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Bone Marrow Transplant 41: 785–90

Bearman SI, Lee JL, Baron AE et al. (1997) Treatment of hepatic venoocclusive disease with recombinant human tissue plasminogen activator and heparin in 42 Marrow transplant patients. Blood 89: 1501–1506

Bearman SI, Shuhart MC, Hinds MS et al. (1992) Recombinant human tissue plasminogen activator für the treatment of established severe venoocclusive disease of the liver after bane marrow transplantation. Blood 80: 2458–2462

Berk PD, Popper H, Krueger GR et al. (1979) Veno-occlusive disease of the liver after allogenic bane marrow transplantation: possible association with graft-versus-host disease. Ann Intern Med 90: 158–164

Bianchi G, Barone D, Lanzarotti E et al. (1993) Defibrotide, a single-stranded polydeoxyribonucleotide acting as an adenosine receptor agonist. Eur J Pharmacol 238: 327–334

Bras G, Jelliffe DB, Stuart KL (1954) Veno-occlusive disease of liver with nonportal type of cirrhosis, occurring in Jamaica. AMA Arch Pathol 57: 285–300

Bulley SR, Strahm B, Doyle J et al. (2006) Defibrotide fort he treatment of hepatic veno-occlusive disease in children. Pediatr Blood Cancer 48: 700–4

Carreras E (2000) Veno-occlusive disease of the liver after hematopoietic cell transplantation. Eur J Haematol 64: 281-291

Carreras E, Bertz H, Arcese W et al. (1998) Incidence and outcome of hepatic veno-occlusive disease after blood or marrow transplantation: a prospective cohort study of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. European Group for Blood and Marrow Transplantation Chronic Leukemia Working Party. Blood 92: 3599–3604

Carreras E, Graenena A, Navasa M et al. (1993) On the reliability of clinical criteria for the diagnosis of hepatic veno- occlusive disease. Ann Hematol 66: 77–80

Chalandon Y, Roosnek E, Mermillod B et al. (2004) Prevention of venoocclusive disease with defibrotide after allogeneic stern cell transplantation. Biol Blood Marrow Transplant 10: 347–354

Chopra R, Eaton JD, Grassi A et al. (2000) Defibrotide for the treatment of hepatic veno-occlusive disease: results of the European compassionate-use study. Br J Haematol 111: 1122–1129

Clift RA, Buckner CD, Appelbaum FR et al. (1990) Allogeneic marrow transplantation in patients with acute myeloid leukemia in first remission: a randomized trial of two irradiation regimens. Blood 76: 1867–71

Corbacioglu S, Greil J, Peters C et al. (2004) Defibrotide in the treatment of children with veno-occlusive disease (VOD): a retrospective multicentre study demonstrates therapeutic efficacy upon early intervention. Bone Marrow Transplant 33: 189–95

DeLeve LD, Shulmann HM, McDonald GB (2002) Toxic injury to hepatic sinusoids: sinusoidal obstruction syndrome (veno-occlusive disease). Semin Liver Dis 22: 27–42

DeLeve LD, McCuskey RS, Wang X et al. (1999) Characterization of a reproducible rat model of hepatic veno-occlusive disease. Hepatology 29: 1779–1791

Dignan F, Gujral D, Ethell M et al. (2007) Prophylactic defibrotide in allogeneic stem cell transplantation: minimal morbidity and zero mortality from veno-occlusive disease. Bone Marrow Transplant 40: 79–82

Dulley FL, Kanfer EJ, Appelbaum FR et al. (1987) Venoocclusive disease of the liver after chemoradiotherapy and autologous bone marrow transplantation. Transplantation 43: 870–3

El Mouelhi M, Kauffmann FC (1986) Sublobular distribution of tranferases and hydrolases associated with glucuronide, sulfate and glutathione conjugation in human liver. Hepatology 6: 450–6

Essell JH, Schroeder MT, Harman GS et al. (1998) Ursodil prophylaxis against hepatic complications of allogeneic bane marrow transplantation. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Ann Intern Med 128: 975–981

Essell JH Thompson JM Harman GS et al. (1992) Marked increase in veno-occlusive disease of the liver associated with methotrexate use for graft-versus-host disease prophylaxis in patients receiving busulfan/cyclophosphamide. Blood 79: 2784–2788

Fajardo LF, Colby TV (1980) Pathogenesis of veno-occlusive liver disease after radiation. Arch Pathol Lab Med 104: 584–588

Ferra C, de Sanjose S, Gallardo D et al. (1998) IL-6 and IL-8 levels in plasma during hematopoietic progenitor transplantation. Haematologica 83: 1082–7

Fisher DC, Vredenburgh JJ, Petros WP et al. (1998) Reduced mortality following bone marrow transplantation fro breast cancer with the addition of peripheral blood progenitor cells is due to a marked reduction in veno-occlusive disease of the liver. Bone marrow transplan 21: 117–22

Forrest DL, Thompson K, Dorcas VG et al. (2003) Low molecular weight heparin for the prevention of hepatic veno-occlusive disease (VOD) after hematopoietic stem cell transplantation: a prospective phase II study. Bone Marrow Transplant 31: 1143–9

Fried MW, Connagan DG, Sharma S et al. (1996) Transjugular intrahepatic portosystemic shunt for the management of severe venoocclusive disease following bone marrow transplantation. Hepatology 24: 588–91

Goringe AP, Brown S, O´Callaghan U et al. (1998) Glutamine and vitamin E in the treatment of hepatic veno-occlusive disease following high-dose chemotherapy. Bone Marrow Transplant 21: 829–32

Hagglund H, Remberger M, Klaesson S et al. (1998) Norethisterone treatment, a major risk-factor tor veno-occlusive disease in the liver after allogeneic bane marrow transplantation. Blood 92: 4568–4572

Hagglund H, Ringden O, Ericzon BG et al. (1996) Treatment of hepatic venoocclusive disease with recombinant human tissue plasminogen activator or orthotopic liver transplantation after allogeneic bone marrow transplantation. Transplantation 62: 1076–80

Ho VT, Linden E, Revta C et al. (2007) Heaptic veno-occlusive disease after hematopoietic stem cell transplantation: Review and update on the use of defobrotide. Semin Thromb Hemost 33: 373–88

Jones RJ, Lee KS, Beschorner WE et al. (1987) Venoocclusive disease of the liver following bane marrow transplantation. Transplantation 44: 778–783

Leahey AM, Bunin NJ (1996) Recombinant human tissue plasminogen activator for the treatment of severe hepatic veno-occlusive disease in pediatric bane marrow transplant patients. Bone Marrow Transplant 17: 1101–1104

Lee JH, Lee KH, Lee JH et al. (2002) Plasminogen activator inhibitor-1 is an independent diagnostic marker as well as severity predictor of hepatic veno-occlusive disease after allogeneic bone marrow transplantation in adults conditioned with busulfan and cyclophosphamide. Br J Haematol 118: 1087–94

MacQuillan GC, Mutimer D (2004) Fulminant liver failure due to severe veno-occlusive disease after haematopoietic cell transplantation: A depressing experience. Q J Med 97: 581–9

Mandel J, Mark EJ, Hales CA (2000) Pulmonary veno-occlusive disease. Am J Respir Crit Care Med 162: 1964–73

Marsa-Vila L, Gorin NC, Laporte JP et al. (1991) Prophylactic heparin does not prevent liver veno-occlusive disease following autologous bone marrow transplantation. Eur J Haematol 47: 346–54

Matute-Bello G, McDonald GD, Hinds MS et al. (1998) Association of pulmonary function testing abnormalities and severe veno-occlusive disease of the liver after bone marrow transplantation. Bone Marrow Transplant 21: 1125–30

McDonald GB, Hinds MS, Fisher LD et al. (1993) Veno-occlusive disease of the liver and multiorgan failure after bane marrow transplantation: a cohort study of 355 patients. Ann Intern Med 118: 255–267

McDonald GB, Sharma P, Matthews DE et al. (1984) Venoocclusive disease of the liver after bane marrow transplantation: diagnosis, incidence, and predisposing factors. Hepatology 4: 116–122

Merresse V, Hartmann 0, Vassal G et al. (1992) Risk factors for hepatic veno-occlusive disease after high-dose busulfan-containing regimens followed by autologous bane marrow transplantation: a study of 136 children. Bone Marrow Transplant 10: 135 –141

Morris JD, Harris RE, Hashmi R et al. (1997) Antithrombin-111 for the treatment of chemotherapy-induced organ dysfunction following bane marrow transplantation. Bone Marrow Transplant 20: 871–878

Nattakom TV, Charlton A, Wilmore DW (1995) Use of vitamin E and glutamine in the successful treatment of severe veno-occlusive disease following bone marrow transplantation. Nutr Clin Pract 10: 16–8

Nimer SD, Milewicz AL, Champlin RE et al. (1990) Successful treatment of hepatic venoocclusive disease in a bane marrow transplant patient with orthotopic liver transplantation. Transplantation 49: 819–821

Ohashi K, Tanabe J, Watanabe R et al. (2000) The Japanese multicenter open randomized trial of ursodeoxycholic acid prophylaxis for hepatic veno-occlusive disease after stern cell transplantation. Am J Hematol 64: 32–38

Or R, Nagler A, Shpilberg O et al. (1996) Low molecular weight heparin for the prevention of veno-occlusive disease of the liver in bone marrow transplantation patients. Transplantation 61: 1067–71

Petäjä J, Pitkänen S, Vettenranta K et al. (2000) Serum tumor marker CA 125 is an early and sensitive indicator of veno-occlusive disease in children undergoing bone marrow transplantation. Clin Cancer Res 6: 531–5

Pihusch M, Wegner H, Goehring P et al. (2005) Diagnosis of hepatic veno-occlusive disease by plasminogen activator inhibitor-1 plasma antigen levels: a prospective analysis in 350 allogeneic hematopoietic stem cell recipients. Transplantation 80: 1376–82

Rabiller A, Jais X, Hamid A et al. (2006) Occult alveolar haemorrhage in pulmonary veno-occlusive disease. Eur Respir J 27: 108–113

Rapaport AP, Doyle HR, Starzl T et al. (1991) Orthotopic liver transplantation for life-threatening veno-occlusive disease of the liver after allogeneic bane marrow transplant. Bone Marrow Transplant 8: 421–424

Richardson PG, Soiffer R, Antin JH et al. (2006) Defibrotide (Df) for the treatment of severe veno-occlusive disease (VOD) and multi-organ failure (MOF) post SCT: final results of a phase II, multi-center, randomized, dose-finding trial. Blood 108: 438(abst.)

Richardson PG, Murakami C, Jin Z et al. (2002) Multi-institutional use of defibrotide in 88 patients after stem cell transplantation with severe veno-occlusive disease and multisystem organ failure: response without significant toxicity in a high-risk population and factors predictive of outcome. Blood 100: 4337–43

Richardson PG, Elias AD, Krishnan A et al. (1998) Treatment of severe veno-occlusive disease with defobrotide: compassionate use results in response without significant toxicity in a high-risk population. Blood 92: 737–44

Ringden 0, Remberger M, Lehmann S et al. (2000) N-acetylcysteine for hepatic veno-occlusive disease after allogeneic stern cell transplantation. Bone Marrow Transplant 25: 993–996

Ringden 0, Wennberg L,Ericzon BG et al. (1992) Altepiase for hepatic veno-occlusive disease after bane marrow transplantation. Lancet 340: 546–547

Rio B, Bauduer F, Arrago JP et al. (1993) N-terminal peptide of type III procollagen: a marker for the development of hepatic veno-occlusive disease after BMT and a basis for determining the timing of prophylactic heparin. Bone Marrow Transplant 11: 471–2

Rio B, Andreu G, Nicod A, et al. (1986) Thrombocytopenia in venoocclusive disease after bane marrow transplantation or chemotherapy. Blood 67: 1773–1776

Rodriguez-Inigo E, Tomas JF, Gomez-Garcia de Soria V et al. (1997) Hepatitis C and G virus infection and liver dysfunction after allogeneic bone marrow transplantation: results from a prospective study. Blood 90: 1326–31

Rosenthai J, Sender L, Secola R, et al. (1996) Phase II trial of heparin prophylaxis for veno-occlusive disease of the liver in chidren undergoing bane marrow transplantation. Bone Marrow Transplant 18: 185–191

Ruutu T, Eriksson B, Remes K et al. (2002) Ursodeoxycholic acid for the prevention of hepatic complications in allogeneic stem cell transplantation. Blood 100: 1977–83

Sato Y, Asada Y, Hara S, et al. (1999) Hepatic stellate cells (Ito cells) in veno-occlusive disease of the liver after allogeneic bane marrow transplantation. Histopathology 34: 66–70

Schlegel PG, Haber HP, Beck J et al. (1998) Hepatic veno-occlusive disease in pediatric stem cell recipients: successful treatment with continuous infusion of prostaglandin E1 and low-dose heparin. Ann Hematol 76: 37–41

Sebagh M, Oebette M, Samuel 0, et al. (1999) Silent & qual presentation of veno-occlusive disease after liver transplantation as part of the process of cellular rejection with endothelial predilection. Hepatology 30: 1144–1150

Shulman HM, Gooley T, Dudley MD et al. (1995) Utility of transvenous liver biopsies and wedged hepatic venous pressure measurements in sixty marrow transplant recipients. Transplantation 59: 1015–22

Shulman HM, Fisher LB, Schoch HG et al. (1994) Venoocclusive disease of the liver after marrow transplantation: Histological correlates of clinical signs ans symptoms. Hepatology 19: 1171–80

Shulman HM, Gown AM, Nugent OJ (1987) Hepatic veno-occlusive disease after bane marrow transplantation. Immunhistochemical identification of the material within occluded central venules. Am J Pathol 127: 549–558

Smith LH, Dixon JD, Stringham JR et al. (2006) Pivotal role of PAI-1 in a murine model of hepatic vein thrombosis. Blood 107: 132–4

Srivastava A, Poonkuzhali B, Shaji RV, et al. (2004) Glutathione S-transferase M 1 polymorphism: a risk factor for hepatic veno-occlusive disease in bane marrow transplantation. Blood 104: 1574–1577

Strasser SI, Myerson 0, Spurgeon CL, et al. (1999) Hepatitis C infection and bane marrow transplantation: a cohort study with 10-year follow-up. Hepatology 29: 1893–1899

Ulutin ON (1993) Antithrombotic effect and clinical potential of defibrotide. Semin Thromb Hemost 19 (Suppl 1): 186–91

Versluys B, Bhattacharaya R, Steward C, et al. (2004) Prophylaxis with defibrotide prevents veno-occlusive disease in stern Gell transplantation after gemtuzumab ozogamicin exposure. Blood 103: 1986

Wadleigh M, Richardson PG, Zahrieh 0 et al. (2003) Prior gemtuzumab ozogamicin exposure significantly increases the risk of veno-occlusive disease in patients who undergo myeloablative allogeneic stern Gell transplantation. Blood 102: 1578–1582

Wang X, Kanel GC, OeLeve LO (2000) Support of sinusoidal endothelial Gell glutathione prevents hepatic veno- occlusive disease in the rat. Hepatology 31: 428–434

Williams LM, Nelson S, Mason CM et al. (1996) Pulmonary veno-occlusive disease in an adult following bone marrow transplantatoin: Case reports and review of the literature. Chest 109: 1388–91

Willmot F, Robertson G (1920) Senecio disease, or cirrhosis of the liver due to senecio poisoning. Lancet 2: 848–9

# Hämostasestörungen im Kindesalter

# Das hämostaseologische Konsil

# 35 Hämorrhagische Diathesen im Kindesalter

*B. Zieger*

## Einleitung

Viele Komponenten des Hämostasesystems weisen in den ersten Lebensmonaten im Vergleich zu den Erwachsenenwerten quantitative Unterschiede auf. Die Diagnostik von kindlichen Hämostasestörungen erfordert daher altersentsprechende Referenzwerte.

Eine häufige und typische Blutungskomplikation beim Frühgeborenen sind intraventrikuläre Blutungen. Ursache ist hier das unreife Gefäßsystem. Eine häufige erworbene Gerinnungsstörung ist ein Vitamin-K-Mangel, der durch prophylaktische Gabe von Vitamin K in der Neugeborenenphase verhindert werden kann. Schwere angeborene Gerinnungsstörungen können bereits in der Neugeborenenperiode zu Blutungen führen. Das diagnostische und therapeutische Vorgehen richtet sich nach der zugrunde liegenden Gerinnungsstörung.

## 35.1 Entwicklung des Gerinnungssystems

Genauso wie im adulten Organismus besteht in der Fetalperiode und beim Neugeborenen die Funktion des Hämostasesystems in der Aufrechterhaltung eines ungestörten Blutflusses. Altersentsprechende Unterschiede existieren in der Plasmakonzentration von einzelnen Hämostasekomponenten. Diese Unterschiede können durch reduzierte Synthese [1], durch beschleunigte Clearance [2] oder durch einen Faktorenverbrauch zum Zeitpunkt der Geburt bedingt sein. Die Plasmakonzentration der Gerinnungsfaktoren in der mütterlichen Zirkulation beeinflussen die kindlichen Faktorenspiegel nicht, da die plazentare Schranke für Gerinnungsproteine nicht durchgängig ist.



Fetale Formen einiger Gerinnungsfaktoren (z. B. FXII, Präkallikrein, FVIII und Fibrinogen) wurden beschrieben [3, 4], die sich bzgl. der funktionellen Aktivität von den adulten Formen unterscheiden. Außerdem existieren fetale Formen der Inhibitoren (z. B. Antithrombin, Protein C; [5]).

Reife Neugeborene haben verglichen mit Erwachsenen niedrigere Werte für die meisten Gerinnungsfaktoren, Inhibitoren sowie Faktoren des Fibrinolysesystems. Abhängig von der Gestationswoche wurden Normalwerte für reife Neugeborene und für Frühgeborene etabliert (siehe Anhang; [6, 7, 8]). Dies muss in der Diagnostik von Hämostasestörungen im Neugeborenenalter berücksichtigt werden.

Die Thromboplastinzeit, die partielle Thromboplastinzeit und die Thrombinzeit sind im Vergleich zu den Erwachsenenwerten verlängert [6, 9]. Die Werte für die In-vitro-Thrombozytenaggregation nach Stimulation mit Kollagen, ADP, Thrombin bzw. Epinephrin sind erniedrigt [10–14]. Das Von-Willebrand-Faktor-(vWF-)Antigen ist zum Zeitpunkt der Geburt erhöht. Insbesondere die hochmolekularen Multimere sind vermehrt nachweisbar und dies führt wiederum zur erhöhten vWF-Kollagenbindungsaktivität (CBA) [15, 16]. Die In-vitro-Blutungszeit ist leicht verkürzt. Interessanterweise ist die Thrombingeneration im Plasma von Neugeborenen verzögert und erniedrigt verglichen zu den Werten im Plasma von Erwachsenen, d.h. das Thrombinpotenzial des Neugeborenen ist im Vergleich zum Erwachsenen deutlich vermindert (auf etwa 40%). Dies ist möglicherweise eine Erklärung dafür, dass bei Kindern thromboembolische Komplikationen seltener auftreten [17]. Interessanterweise werden jedoch beim Neugeborenen mit geringen Mengen Tissue Factor größere Mengen an Thrombin gebildet als beim Erwachsenen [18].

Außerdem sind Plasminogen, $\alpha_2$-Antiplasmin ($\alpha_2$AP) und »histidine-rich glycoprotein« (HRGP) in Neugeborenen im Vergleich zu Erwachsenen erniedrigt [6, 7, 19–21]. Aufgrund dieser Veränderungen ist die Plasminbildung bei Neugeborenen vermindert. Es wird angenommen, dass diese Unterschiede sich auf den Therapieerfolg und auf die Sicherheit einer fibrinolytischen Therapie auswirken [22, 23].

## 35.2 Blutungen

Intrauterin auftretende Blutungen sind äußerst selten und meist Folge einer schwerwiegenden Erkrankung des Feten und/oder der Mutter. Ein Beispiel ist eine intrazerebrale Blutung des Ungeborenen, die durch den Übertritt von antithrombozytären Antikörpern in den fetalen Kreislauf induziert werden kann (▶ Kap. 30.2).

**! Beim Frühgeborenen sind intrakranielle Blutungen die häufigste und schwerwiegendste Blutungskomplikation. Ausgelöst werden diese Blutungen wahrscheinlich durch die Unreife des Gefäßsystems, die zu einer erhöhten Fragilität führt.**

Beim reifen Neugeborenen und im Kleinkindesalter treten nicht traumatische Blutungen eher selten auf. Auslösende Ursachen sind angeborene oder erworbene Störungen des Hämostasesystems, ähnlich wie beim Erwachsenen. Eine

Blutungsneigung sollte frühzeitig abgeklärt werden, wenn ein Neugeborenes ein Kephalhämatom entwickelt, persistierend aus Punktionsstellen, Inzisionswunden, dem Nabel oder nach der Zirkumzision blutet.

Typische Symptome einer intrakraniellen Blutung sind gespannte Fontanelle, Krampfleiden und Meningismus. Neugeborene können aber auch durch Apnoe, Erbrechen, Irritabilität oder Lethargie auffallen. Diagnosestellung und Verlaufskontrollen erfolgen mittels Ultraschalluntersuchungen.

Vor einer Lumbalpunktion bei einem Säugling, der zerebrale Symptome bietet, sollten – sofern dies klinisch vertretbar ist – die Gerinnungsglobaltests bestimmt werden. Die Studie von Adler und Mitarbeitern ergab, dass epidurale und subdurale Hämatome nach Lumbalpunktionen insbesondere bei denjenigen Kindern auftraten, bei denen eine Gerinnungsstörung vorlag [24]. Diese Gerinnungsstörung war laborchemisch zuvor nicht untersucht worden. In 7,8% dieser Fälle hatten die Patienten zuvor keine vermehrt auftretenden klinischen Blutungssymptome.

### 35.2.1 Intrakranielle Blutungen bei Frühgeborenen

Eine intraventrikuläre Blutung bei Frühgeborenen ist eine Sonderform der intrakraniellen Blutung, die von der fragilen Mikrozirkulation der periventrikulären, subependymalen Matrix ausgeht und sich in die lateralen Ventrikel ausbreiten kann. Eine intraventrikuläre Blutung tritt hauptsächlich bei Frühgeborenen auf. Deeg und Mitarbeiter etablierten folgende Gradeinteilung [25]:

- Grad I: Blutung bleibt auf die subependymale Matrix beschränkt,
- Grad II: Blutung füllt weniger als 50% des Ventrikelsystems aus,
- Grad III: Blutung füllt mehr als 50% des Ventrikelsystems aus.

Eine Parenchymblutung (früher Grad IV entsprechend Papile) hat meist eine andere Pathogenese (hämorrhagischer Parenchyminfarkt).

**! Die meisten intraventrikulären Blutungen treten innerhalb der ersten 72 Lebensstunden auf [26, 27].**

Eine intrakranielle Blutung wird bei mehr als 20% derjenigen Frühgeborenen beobachtet, die vor der 32. Gestationswoche oder mit einem Geburtsgewicht von weniger als 1.500 g geboren werden [28].

Die genaue Ursache einer intraventrikulären Blutung ist nicht eindeutig geklärt. Möglicherweise führen Veränderungen des zerebralen Blutflusses zur Ischämie und anschließender Reperfusion des Hirngewebes [29, 30]. Die Fragilität der germinalen Matrixkapillaren, ein oxidativer Schaden am Endothel, eine vorübergehende Störung des Gerinnungssystems, erniedrigte Plasmafaktoren, eine Thrombozytopenie oder eine verstärkte lokale fibrinolytische Aktivität können zu einer intraventrikulären Blutung beitragen. Wahrscheinlich kommt es erst sekundär bei ausgeprägter intraventrikulärer Blutung zu einem Abfall der Einzelfaktoren.

McDonald und Mitarbeiter beschreiben, dass eine Aktivierung des Gerinnungssystems mit Mikrothrombosierung einer intraventrikulären Blutung vorausgeht [31, 32]. Waltl und Mitarbeiter demonstrierten, dass die Substitution mit Prothrombinkomplexkonzentraten zu einer vermehrten Blutungshäufigkeit führt [33]. Chang und Mitarbeiter zeigten, dass bei heparinisierten Patienten intraventrikuläre Blutungen weniger häufig auftraten [34]. Dieser Hypothese widerspricht allerdings die Studie von Schmidt und Mitarbeitern, die nach Gabe von Antithrombinkonzentrat zur Behandlung des IRDS (»infant respiratory distress syndrome«) eine vermehrte Häufigkeit einer intraventrikulären Blutung [35] beobachtete.

### 35.2.2 Intrakranielle Blutungen bei Reifgeborenen

Intrakranielle Blutungen sind bei reifen Neugeborenen selten und treten entweder spontan oder sekundär nach einer Vielzahl von Ereignissen auf (z. B. Asphyxie bei Geburt, Trauma, Vitamin-K-Mangel und bei schwerem angeborenem Einzelfaktorenmangel). Ein weiterer Risikofaktor ist ein niedriges Geburtsgewicht. Die Lokalisation der intrakraniellen Blutung ist meistens subarachnoidal [36].

### 35.2.3 Blutungen bei kongenitalen Gerinnungsstörungen

#### Klinik

Das Risiko bei Vorliegen einer kongenitalen Gerinnungsstörung eine Blutung zu entwickeln, ist abhängig von der Lebensphase des Kindes und dem Schweregrad der Gerinnungsstörung. So treten Gelenkblutungen bei Säuglingen mit Hämophilie meistens nicht in der Neonatalperiode oder während der ersten Lebensmonate auf. Gelenkblutungen werden häufig erst nach dem fünften bis sechsten Lebensmonat beobachtet, wenn der Säugling aktiver wird. Das Risiko, eine intrakranielle Blutung bei schwerer Hämophilie während der Kindheit zu erleiden, wird mit 2–8% angegeben [37].

Neugeborene mit angeborenen, ausgeprägten Störungen des Fibrinogens (Afibrinogenämie, Hypofibrinogenämie und Dysfibrinogenämie) oder mit homozygotem FXIII-Mangel können ebenfalls Blutungssymptome auf-

weisen. Sie können vermehrt aus dem Nabel bluten oder intrakranielle Blutungen entwickeln. Neugeborene und Kinder mit heterozygotem FXIII-Mangel haben keine Blutungssymptome, sofern sie nicht operiert werden oder ein Trauma erleiden.

### Diagnostik

Falls der Säugling Blutungssymptome zeigt, sollten die Globaltests und die Thrombozytenzahl untersucht werden. Entsprechend der Werte für die Globaltests sollten die Aktivitäten der Einzelfaktoren (z. B. FVIII- und FIX-Aktivität bei verlängerter APTT) bestimmt werden. Auch seltene Formen der Von-Willebrand-Erkrankung sollten abgeklärt werden. Falls das Neugeborene eine Thrombozytopenie und Blutungssymptome aufweist, sollte differenzialdiagnostisch auch an eine Von-Willebrand-Erkrankung Typ 2B gedacht werden.

Da während der ersten Lebenswochen die Plasmakonzentrationen vieler Gerinnungsproteine physiologisch vermindert sind, ist die korrekte Diagnose eines kongenitalen Faktorenmangels im Neugeborenenalter schwierig. Seltene kongenitale Blutungsneigungen wie homozygoter Mangel von FII, FV, FVII, FX, FXI oder FXIII können im Neugeborenenalter trotzdem korrekt diagnostiziert werden, da dann die entsprechende Plasmakonzentration auf weniger als 1% reduziert ist. Patienten mit FXII-, Präkallikrein- oder HMWK-Mangel (Mangel an hochmolekularem Kininogen) haben keine vermehrte Blutungsneigung.

Da die physiologische Untergrenze für die FVIII-Aktivität bei 50% liegt, können die verschiedenen Formen der Hämophilie A diagnostiziert werden. Im Neugeborenenalter können auch die schwere und mittelschwere Form der Hämophilie B unterschieden werden; jedoch erfordert die Diagnose der leichten Form der Hämophilie B eine erneute FIX-Bestimmung zu einem späteren Zeitpunkt, da die physiologische Untergrenze für FIX-Aktivität im Neugeborenenalter bei etwa 30% liegt [42].

Bei einer positiven Familienanamnese bezüglich Hämophilie kann bereits eine pränatale Diagnostik durchgeführt werden, d. h. eine Untersuchung der fetalen DNA oder der fetalen Gerinnungsfaktoren (weniger häufig), um eine Hämophilie A (FVIII-Mangel) oder eine Hämophilie B (FIX-Mangel) zu diagnostizieren.

Bei Neugeborenen und Kindern mit Fibrinogenmangel sind die APTT und die Prothrombinzeit verlängert. Hingegen sind bei FXIII-Mangel die APTT und die Prothrombinzeit im altersentsprechenden Normalbereich; d. h. der FXIII-Mangel wird durch die Globaltests nicht erkannt. Neugeborene mit einem homozygoten FXIII-Mangel haben eine FXIII-Aktivität von <1%.

35

### Therapie

> **! Auch im Neugeborenenalter und bei Kindern werden zur Therapie und Prophylaxe von Blutungen die entsprechenden Faktorenkonzentrate eingesetzt.**

Da die Recovery der Gerinnungsfaktoren im Säuglingsalter aufgrund der insgesamt größeren Clearance leicht vermindert ist [43], ist die Bestimmung der Einzelfaktoren nach Faktorensubstitution erforderlich. FFP (»fresh frozen plasma«) kann im Blutungsfall eingesetzt werden, solange der genaue Faktorenmangel noch nicht diagnostiziert ist.

## 35.2.4 Blutungen bei erworbenen Gerinnungsstörungen

Bei ansonsten gesunden Säuglingen und Kindern ist eine erworbene Blutungsneigung auf einen Vitamin-K-Mangel oder auf eine Immunthrombozytopenie (▶ Kap. 30.2) zurückzuführen. Bei kranken Säuglingen und Kindern können ähnlich wie beim Erwachsenen erworbene Gerinnungsstörungen im Rahmen der Grunderkrankung (z. B. disseminierte intravasale Gerinnungsstörung oder Leberversagen) auftreten.

### Vitamin-K-Mangel

Die Faktoren II, VII, IX und X werden Vitamin-K-abhängig in der Leber synthetisiert (▶ Kap. 17). Bei einem schweren Vitamin-K-Mangel ist die Aktivität dieser Faktoren sowie von Protein C und Protein S vermindert [44]. Bei einem Vitamin-K-Mangel können Kinder gastrointestinale Blutungen (Hämatemesis, Melaena), urogenitale Blutungen (Hämaturie), intrakranielle Blutung oder Hautblutungen entwickeln. Manchmal wird verlängertes Nachbluten aus den Punktionsstellen beobachtet.

Der Vitamin-K-Speichervorrat ist besonders beim Neugeborenen vermindert. Es werden 3 Formen unterschieden.

**Frühe Form des Vitamin-K-Mangels.** Diese Form wird bei gestillten Neugeborenen innerhalb der ersten 24 Lebensstunden beobachtet. Häufig erhielt in diesen Fällen die Mutter während der letzten 10 Tage der Schwangerschaft Antikonvulsiva, orale Antikoagulantien, Rifampicin oder Isoniazid, d.h. Medikamente, die entweder mit dem Vitamin-K-Speicher oder mit der Vitamin-K-Funktion interagieren, ohne dass der Mutter prophylaktisch hoch dosiert Vitamin K zugeführt wurde [45].

**Klassischer Vitamin-K-Mangel.** Die klassische Form wird auch Morbus haemorrhagicus neonatorum genannt und tritt typischerweise bei reifgeborenen, gestillten Neugeborenen auf, meist zwischen dem zweiten und siebten Lebens-

tag. Diese Form des Vitamin-K-Mangels wurde erstmals von Townsend beschrieben [46]. Säuglinge können einen Vitamin-K-Mangel entwickeln, da die Muttermilch nicht ausreichend Vitamin K enthält und da sie in den ersten Lebenstagen wenig Trinkmenge zu sich nehmen. Die Hauptquelle des Vitamin K während dieser Periode ist der Dünndarm und das Kolon (Vitamin $K_2$/Menachinon). Allerdings ist die Besiedlung des Darms mit Vitamin-K-produzierenden Bakterien in manchen Fällen spärlich bis fehlend. In späteren Monaten nach Beendigung des Stillens wird Vitamin K (Vitamin $K_1$/Phytomenadion) zusammen mit der regulären Nahrung aufgenommen und resorbiert.

**Späte Form des Vitamin-K-Mangels.** Die späte Form wird zwischen dem zweiten und sechsten Lebensmonat (meistens in der vierten bis zehnten Lebenswoche) beobachtet und ist oft durch Malresorption von Vitamin K (z. B. durch Cholestase) verursacht. Mehrere Erkrankungen können zum Vitamin-K-Mangel führen: Durchfall bei gestillten Säuglingen, chronischer Durchfall, Mukoviszidose, α1-Antitrypsinmangel, Hepatitis und Zöliakie [44]. Vitamin-K-Mangel bei Kindern mit parenteraler Ernährung entwickelt sich langsam (oft entwickeln sich die Symptome nach 3–4 Monaten). Bei schwerkranken Kindern oder nach Dünndarm- bzw. Kolonresektion oder bei Kindern, die Antibiotika erhalten, kann sich ebenfalls ein Vitamin-K-Mangel entwickeln.

> **!** **Diagnostisch wegweisend ist ein erniedrigter Quick-Wert bei gleichzeitig normwertigen nicht Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren, wie z. B. dem FV.**

Grundsätzlich können auch die decarboxylierten, inaktiven Formen der Vitamin-K-abhängigen Faktoren (PIVKA) nachgewiesen werden, in der Routinediagnostik spielt dies keine Rolle.

Um einen Vitamin-K-Mangel zu verhindern, erhalten Neugeborene prophylaktisch Vitamin K. Abhängig davon, in welchem Land die Neugeborenen leben und in welcher körperlichen Verfassung sie sich befinden, wird die Vitamin K-Prophylaxe oral, intravenös oder intramuskulär verabreicht. In Deutschland erhalten gesunde Reifgeborene derzeit 3-malig eine orale Vitamin-K-Prophylaxe (jeweils 2 mg): am ersten Lebenstag, am fünften bis siebten Lebenstag zur U2 und in der dritten bis vierten Lebenswoche zur U3. Kranke Neugeborene oder Frühgeborene erhalten Vitamin K (0,5 mg) intravenös.

> **!** **Der tägliche Bedarf an Vitamin K liegt bei etwa 1–5 µg/kgKG für Neugeborene.**

Einige Gruppen empfehlen eine Einzeldosis von 0,5–1,0 mg i.m. oder eine orale Dosis von 2–4 mg bei Geburt oder viele orale Dosen. Eine Metaanalyse schlussfolgerte, dass intramuskuläres Vitamin K effektiver ist als eine orale Einzelgabe. Jedoch mögen mehrere orale Gaben eine akzeptable Alternative sein [47]. Vitamin K in Form von Mischzellen war eingeführt worden, um die Resorption zu optimieren. Dennoch berichteten Schubiger und Mitarbeiter, dass die i.m.- bzw. i.v.-Gabe immer noch sicherer sei als diese neue orale Applikation [48].

Im Fall eines Vitamin-K-Mangels bewirkt die orale Gabe von Vitamin K eine Anhebung des Quick-Werts innerhalb weniger Stunden. Besteht eine Malabsorption von Vitamin K, ist die parenterale Applikation von Vitamin K notwendig.

Bestimmte Risikogruppen erfordern eine zusätzliche Vitamin-K-Prophylaxe (z. B. Kinder mit α1-Antitrypsinmangel, chronischem Durchfall, Mukoviszidose oder Zöliakie). Schwangere, die eine antikonvulsive Therapie erhalten, sollten im dritten Schwangerschaftstrimenon Vitamin K einnehmen, um einen Vitamin-K-Mangel beim Neugeborenen zu verhindern. Nur etwa 10% des der Mutter verabreichten Vitamin K erreicht den Feten.

Bei jedem Patient mit Verdacht auf eine lebensbedrohliche Vitamin-K-Mangel-Blutung sollte sofort mit der Vitamin-K-Therapie begonnen werden, noch bevor der Vitamin-K-Mangel laborchemisch bestätigt wird. Das Vitamin K kann s.c. oder i.v. verabreicht werden. Je nach Schweregrad der Blutung sollte zusätzlich FFP (10–15 ml/kgKG) oder ein Prothrombinkomplexpräparat appliziert werden.

#### Unspezifische Inhibitoren der Gerinnungsfaktoren

Nach Luftwegsinfekten findet sich bei Kindern manchmal eine Verminderung der Einzelfaktoren, die oft erst im präoperativen Screening erkannt werden, da sie klinisch im Alltag keine Symptome verursachen. Die Erniedrigung der Faktoren VIII, IX, XI und XII führt zu einer verlängerten aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (APTT), weshalb präoperativ die erweiterte Gerinnungsuntersuchung veranlasst wird. Diese Faktorenerniedrigung ist wahrscheinlich durch vorübergehende Inhibitoren bedingt, die meist nach 2–9 Monaten spontan verschwinden.

Es ist keine Therapie notwendig. In den meisten Fällen kommt es zu keiner vermehrten Blutungsneigung, allerdings wurde von 2–3 Einzelfällen berichtet, bei denen es postoperativ dennoch zu einer Nachblutung kam.

### 35.2.5 Komplexe Gerinnungsstörungen

#### Lebererkrankungen

Bei Lebererkrankungen sind durch eine eingeschränkte Syntheseleistung die meisten Einzelfaktoren reduziert, nur vWF, der im Endothel und in Thrombozyten gebildet bzw. gespeichert wird, ist normal oder erhöht. Meist wird eine normale oder leicht erhöhte FVIII-Aktivität gemessen, da

der vWF den FVIII vor dem Abbau schützt (und da FVIII in den sinusoidalen Endothelzellen der Leber gebildet wird).

Primäre und sekundäre Lebererkrankungen sind:
- angeborene Herzerkrankungen mit reduziertem kardialem Output,
- Hypoxie,
- extrahepatische Gallengangsatresie,
- Stoffwechselerkrankungen (z.B. Galaktosämie),
- Hepatitis (viral oder toxisch bedingt).

Differenzialdiagnostisch ist bei älteren Kindern auch an Thrombosen der Pfortader oder der größeren Lebervenen (Budd-Chiari-Syndrom) oder Verschluss der kleinen Lebervenen (VOD=»veno-occlusive disease«) zu denken. Ein Budd-Chiari-Syndrom kann auch im Rahmen einer Wilson-Krankheit auftreten, d.h. auch diese sollte abgeklärt werden.

## Gerinnungsstörungen bei extrakorporaler Zirkulation

Eine extrakorkorale Membranoxygenierung (ECMO) wird bei Neugeborenen mit Mekoniumaspiration, Sepsis, angeborener Zwerchfellhernie und pulmonaler Hypertension eingesetzt. Blutungen, insbesondere Hirnblutungen, sind die ernsthaftesten Komplikationen dieser Technik. Die Inzidenz der Hirnblutungen liegt bei 25–50% bei Neugeborenen, die mit ECMO behandelt werden. Diese Hirnblutungen sind assoziiert mit einer erhöhten Mortalität und mit neurologischen Auffälligkeiten [49].

Ähnlich wie bei der Herz-Lungen-Maschine ist das erhöhte Blutungsrisiko bedingt durch den Einsatz von Heparin und den unter ECMO auftretenden Gerinnungsstörungen (erniedrigte Plasmakonzentration der Einzelfaktoren und Thrombozytenfunktionsstörungen [50, 51]). Andere Faktoren, die das erhöhte Blutungsrisiko beeinflussen können, sind Hypoxie, Ischämie, Gestationswoche, Azidose, Sepsis und Behandlung mit Epinephrin [52].

35

## Literatur


[1] Niessen RW, Lamping RJ, Peters M et al. (1996) Fetal and neonatal development of antithrombin III plasma activity and liver messenger RNA levels in sheep. Pediatric Res 39: 685–691
[2] Andrew M, Mitchell L, Berry LR et al. (1998) Fibrinogen has a rapid turnover in the healthy newborn lamb. Pediatric Res 23: 249–252
[3] Andrew M, Bhogal M, Karpatkin M (1981) Factors XI and XII and prekallikrein in sick and healthy premature infants. N Engl J Med 305: 1130–1133
[4] Witt I, Muller H, Kunzer W (1969) Evidence for the existence of foetal fibrinogen. Thromb Diath Haemorrh 22: 101–109
[5] Manco-Johnson MJ, Spedale S, Peters M et al. (1995) Identification of a unique form of protein C in the ovine fetus: developmentally linked transition to the adult form. Pediatr Res 37: 365–372
[6] Andrew M, Paes B, Milner R et al. (1987) Development of the human coagulation system in the full-term infant. Blood 70: 165–172
[7] Andrew M, Paes B, Milner R et al. (1988) Development of the human coagulation system in the healthy premature infant. Blood 72: 1651–1657
[8] Lippi G, Franchini M, Montagnana M, Guidi GC (2007) Coagulation testing in pediatric patients: the young are not just miniature adults. Semin Thromb Hemost 33: 816–820
[9] Andrew M, Schmidt B, Mitchell L et al. (1990) Thrombin generation in the newborn plasma is critically dependent on the concentration of prothrombin. Thromb Haemost 63: 27–30
[10] Corby DG, O'Barr TP (1981) Decreased alpha-adrenergic receptors in newborn platelets: cause of abnormal response to epinephrine. Dev Pharmacol Ther 2: 215–225
[11] Pandolfi M, Astedt B, Cronber L (1972) Failure of fetal platelets to aggregate in response to adrenaline and collagen. Proc Soc Exp Biol Med 141: 1081–1083
[12] Israels SJ, Daniels M, McMillan EM (1990) Deficient collagen induced activation in the newborn platelet. Ped Res 27: 337–343
[13] Rajasekhar D et al. (1994) Neonatal platelets are less reactive than adult platelets to physiological agonists in whole blood. Thromb Haemost 72: 957–963
[14] Saleh AA, Alshameeri RS, O'Brien JM (1994) Maternal and neonatal primary hemostasis. Thromb Res 73: 125–129
[15] Weinstein MJ, Blanchard R, Moake JL et al. (1989) Fetal and neonatal von Willebrand factor (VWF) is unusually large and similar to the VWF in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. Br J Haematol 72: 68–72
[16] Katz JA et al. (1989) Relationship between human development and disappearance of unusually large von Willebrand factor ultimers from plasma. Blood 3: 1851–1858
[17] Andrew M, Mitchell L, Vegh P et al. (1994) Thrombin regulation in children differs from adults in the absence and presence of heparin. Thromb Haemost 72: 836–842
[18] Cvirn G et al. (2003) Low tissue factor pathway inhibitor (TFPI) together with low antithrombin allows sufficient thrombin generation in neonates. J Thromb Haemost 1: 263–268
[19] Parmar N, Albisetti M, Berry LR, Chan AK (2006) The fibrinolytic system in newborns and children. Clin Lab 52: 115–124
[20] Pinacho A, Paramo JA, Ezcurdia M, Rocha E (1995) Evaluation of the fibrinolytic system in full-term neonates. Int J Clin Lab Res 25: 149–152
[21] Andrew M, Paes B, Johnston M (1990) Development of the human coagulation system in the neonate and young infant. Am J Pediatr Hematol Oncol 12: 95–104
[22] Andrew M, Vegh P, Johnston M et al. (1992) Maturation of the hemostatic system during childhood. Blood 80: 1998–2005
[23] Ries M, Zenker M, Klinge J (1995) Age-related differences in a clot lysis assay after adding different plasminogen activators in a plasma milieu in vitro. J Pediatr Hematol Oncol 17: 260–264
[24] Adler MD, Comi AE, Walker AR (2001) Acute hemorrhagic complication of diagnostic lumbar puncture. Pediatr Emerg Care 17: 184–188
[25] Deeg KH, Staudt F, von Rohden L et al. (1999) Classification of intracranial hemorrhage in premature infants. Ultraschall Med. 20: 165-170.
[26] Palma PA, Miner ME, Morriss FH Jr et al. (1979) Intraventricular hemorrhage in the neonate born at term. Am J Dis Child 133: 941–944
[27] Mack LA, Wright Km Hirsch JH et al. (1981) Intracranial hemorrhage in premature infants: accuracy in sonographic evaluation. AJR Am J Roentgenol 137: 245–250
[28] Antoniuk S, da Silva RV (2000) Periventricular and intraventricular hemorrhage in the premature infants. Rev Neurol 31: 238–243
[29] Cooke RWI (1981) Factors associatedwith periventricular haemorrhage in very low birthweight infants. Arch Dis Child 56: 425

[30] Dykes FD, Lazzara A, Ahmann P (1980) Intraventicular haemorrhage: A prospective evaluation of etiopathogenesis. Pediatrics 66: 42
[31] McDonald MM et al. (1984) Role of coagulopathy in newborn intracranial hemorrhage. Pediatrics 74: 26–31
[32] McDonald MM et al. (1984)Timing and antecedents of intracranial hemorrhage in the newborn. Pediatrics 74: 32–36
[33] Waltl H et al. (1973) Intracranial haemorrhage in low-birth-weight infants and prophylactic administration of coagulation-factor concentrate. Lancet 7815: 1284–1286
[34] Chang GY et al. (1997) Heparin and the risk of intraventricular hemorrhage in premature infants. J Pediatrics 131: 362–366
[35] Schmidt B et al. (1998) A placebo-controlled randomized trial of antithrombin therapy in neonatal respiratory distress syndrome. Am J Respir Crit Care Med 158: 470–476
[36] Myles LM, Massicotte P, Drake J (2001) Intracranial hemorrhage in neonates with unrecognized hemophilia A: a persisting problem. Pediatr Neurosurg 34: 94–97
[37] Kletzel M, Miller CH, Becten DL et al. (1989) Postdelivery head bleeding in hemophiliac neonates. Causes and management. Am J Dis Child 143: 1107–1110
[38] Daffos F, Forestier F, Kaplan C et al. (1988) Prenatal diagnosis and management of bleeding disorders with fetal blood sampling. Am J Obstet Gynecol 158: 939–946
[39] Smith PS (1990) Congenital coagulation protein deficiencies in the perinatal period. Semin Perinatolol 14: 384–392
[40] Forestier F, Daffos F, Sole Y et al. (1986) Prenatal diagnosis of hemophilia by fetal blood sampling under ultrasound guidance. Haemostasis 16: 346–351
[41] Firshein SI, Hoyer LW, Lazarchick J et al. (1979) Prenatal diagnosis of classic hemophilia. N Engl J Med 300: 937–941
[42] Andrew M, Brooker LA (1995) Blood component therapy in neonatal hemostatic disorders. Transfus Med Rev 9: 231–250
[43] Andrew M (1997) The relevance of developmental hemostasis to hemorrhagic disorders of newborns. Semin Perinatol 21: 70–85
[44] Sutor AH, Von Kries R, Cornelissen EA et al. (1999) Vitamin K deficiency bleeding (VKDB) in infancy. ISTH Pediatric/Perinatal Subcommittee. International Society on Thrombosis and Haemostasis. Thromb Haemost 81: 456–461
[45] Suzuki S, Iwata G, Sutor AH (2001) Vitamin K deficiency during the perinatal and infantile period. Semin Thromb Hemost 27: 9398
[46] Townsend CW (1984) The haemorrhagic disease of the newborn. Arch Pediatr 11: 559
[47] Brousson MA, Klein MC (1996) Controversies surrounding the administration of vitamin K to newborns: a review. CMAJ 154: 307–315
[48] Schubiger G, Laubscher B, Bänziger O (2002) Vitamin K-Prophylaxe bei Neugeborenen: Neue Empfehlungen. Paediatrica 13: 5455
[49] Canaky AI, Fessler RD, Klein MD (1993) Ultrasound abnormalities in term infants on ECMO. Pediatr Neurosurg 19: 202–205
[50] Mc Manus M, Kevy S, Bower LK et al. (1995) Coagulation factor deficiencies during initiation of extracorporeal membrane oxygenation. J Pediatr 126: 900–904
[51] Cheung PY, Sawicki G, Salas E et al. (2000) The mechanisms of platelet dysfunction during extracorporeal membrane oxygenation in critically ill neonates. Crit Care Med 28: 2584–2590
[52] Hardart GE, Fackler JC (1999) Predictors of intracranial hemorrhage during neonatal extracorporeal membrane oxygenation. J Pediatr 134: 156–159

# 38 Präoperative Hämostasediagnostik

*J. Koscielny*



## Einleitung

Jeder operative Eingriff ist mit einem Blutungsrisiko verbunden, das durch eine Gerinnungsstörung erheblich verstärkt werden kann. Ziel der präoperativen Hämostasediagnostik ist es, diese Patienten zu erkennen, um spätere Blutungskomplikationen zu vermeiden. Neben der Laboranalytik besitzt eine gezielte Blutungsanamnese einen hohen Stellenwert zur Erkennung von Hämostasestörungen. Im folgenden Kapitel wird das bisherige präoperative Hämostasemanagement kritisch bewertet und ein praktisches Diagnose- und Therapiekonzept vorgestellt.

## 38.1 Zielsetzung

Perioperative Blutungen werden durch chirurgische und/oder hämostaseologische Ursachen ausgelöst. Hämostasestörungen können bereits vor der Operation bestanden haben oder werden durch den Operationsverlauf induziert. Hierzu zählen die Verdünnungskoagulopathie, die Hyperfibrinolyse, eine Hypothermie oder eine Azidose. Hämostasestörungen lassen sich naturgemäß präoperativ nur schwer vorhersagen.

Demgegenüber können Thrombozytenfunktionsstörungen oder ein Von-Willebrand-Syndrom (Miller et al. 1987; Rodeghiero u. Castaman 1987; Sadler 2003; Werner et al. 1993) bereits im präoperativen Vorfeld festgestellt werden (Kußmann et al. 1997; Koscielny et al. 2004; Strauß et al. 2006).

Etwa 4,5% der Patienten weisen präoperativ eine Hämostasestörung auf, deren Ursache bei über 70% thrombozytär bedingt ist. Eine häufige Ursache dieser thrombozytären Gerinnungsstörung ist die Einnahme von Thrombozytenfunktionshemmern. Diese Patienten haben ein erhebliches Risiko, eine transfusionspflichtige Blutung zu entwickeln (Koscielny et al. 2004, 2006). Falls medizinisch möglich, sollte die Medikation deswegen präoperativ umgestellt werden.

Aber auch andere Medikamente können das Hämostasesystem beeinflussen. Beispiele sind Antibiotika oder Antiepileptika (Valproinsäure), die die Thrombozytenfunktion bzw. die Funktion des Von-Willebrand-Faktors stören (George u. Shattil 1991; Koscielny et al. 2004). Auch erworbene organbezogene Hämostasestörungen, wie bei schwerer Leber- oder Niereninsuffizienz, werden in der präoperativen Diagnostik oft nicht adäquat bewertet, und das hierdurch erhöhte perioperative Blutungsrisiko wird nicht erkannt.

**! Die am häufigsten vorkommenden Hämostasestörungen, wie z. B. das Von-Willebrand-Syndrom oder erworbene Thrombozytenfunktionsstörungen, werden oft präoperativ unzureichend erkannt.**

## 38.2 Blutungsanamnese und Laborparameter

Die präoperative Hämostasediagnostik beschränkt sich in der Regel auf die Messung der plasmatischen Globaltests, wie der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (APTT) oder der Thromboplastinzeit (TPZ oder Quick-Wert; Kußmann et al. 1997; Kitchens 2005; Pfanner et al. 2007). Der



**Tab. 38.1.** Bisherige prospektive Studien zum präoperativen Hämostasescreening

| Autor | Anzahl | Operationsarten | Präoperatives Screening | Anzahl der pathologischen Tests | Anzahl der Blutungen (Transfusionen) |
|---|---|---|---|---|---|
| Eika et al. 1978 | 101 | Abdomen, Schilddrüse | APTT, TPZ, Thrombozytenzahl plus BZ | 8 (8%) | 17 (17%) |
| Kaplan et al. 1985 | 2.000 | Elektiv (Chirurgie) | APTT, TPZ, Thrombozytenzahl | 5 (0,2%) | – |
| Rohrer et al. 1988 | 282 | Elektiv (Chirurgie) | APTT, TPZ, Thrombozytenzahl plus BZ | 18 (6%) | – |
| Velanovich 1991 | 520 | Elektiv (Chirurgie) | APTT, TPZ, Thrombozytenzahl | 13 (2,4%) | 9 (2%) |
| Macpherson et al. 1993 | 1.872 | Elektiv (Chirurgie) | APTT, TPZ Thrombozytenzahl | 9 (0,5%) | 49 (3%) |
| Houry et al. 1995 | 3.242 | Elektiv, notfallmäßig | APTT, TPZ, Thrombozytenzahl plus BZ | 51 (1,6%) | 237 (8%) |

*ATPP* aktivierte partielle Thromboplastinzeit; *BZ* Blutungszeit; *TPZ* Thromboplastinzeit

prädiktive Wert zur Erkennung einer Gerinnungsstörung ist niedrig. Dies wurde in zahlreichen prospektiven Untersuchungen belegt (Eika et al. 1978; Kaplan et al. 1985; Rohrer et al. 1988; Velanovich 1991; Macpherson et al. 1993; Houry et al. 1995; Tab. 38.1). Auch mit der Blutungszeit (BZ) kann keine signifikante Steigerung des positiven prädiktiven Werts erreicht werden.

Das Fazit der bisherigen 6 prospektiven Untersuchungen ist eindeutig (Koscielny et al. 2004, Pfanner et al. 2007): Das präoperative Hämostasescreening mit den Parametern APTT, Quick-Wert und Blutungszeit entdeckt zu wenige Hämostasestörungen und sagt nicht alle perioperativen Blutungen voraus. Damit ist die alleinige präoperative Testung nicht sinnvoll und verzichtbar.

Eine sinnvolle Ergänzung zu den oben genannten Screeningtests bildet eine strukturierte Erhebung der Blutungsanamnese (Borzotta u. Keeling 1984; Sramek et al. 1995; Koscielny et al. 2004; Eberl et al. 2005; Pfanner et al. 2007). Die Fragen müssen in einer Form gestellt werden, die der Patient sowohl verstehen als auch adäquat beantworten kann. Die Blutungsanamnese wird als auffällig bezeichnet, wenn mindestens eine Frage vom Patienten mit »Ja« beantwortet wird (siehe Übersicht) und im Rahmen des Gespräches mit dem Arzt als relevant bestätigt wird.

**Validierter Fragebogen zur Ermittlung eines erhöhten Blutungsrisikos (Koscielny et al. 2004)**

1. Haben Sie vermehrt Nasenbluten, auch ohne erkennbaren Grund?
2. Treten oder traten bei Ihnen vermehrt »blaue Flecke« oder kleine, punktförmige Blutungen auf, ohne dass sie sich gestoßen haben?
3. Wie oft treten Blutungen oder »blaue Flecke« auf?
   - 1- bis 2-mal pro Monat.
   - 1- bis 2-mal pro Woche.
   - Mehr als 1- bis 2-mal pro Woche.
4. Haben Sie Zahnfleischbluten?
5. Haben Sie den Eindruck, dass es bei Schnitt- (z. B. Rasieren) oder Schürfwunden länger nachblutet?
6. Traten bei Ihnen längere und verstärkte Nachblutungen nach oder während Operationen (z. B. Mandeloperationen, Blinddarmoperationen, Geburten) auf?
7. Traten bei Ihnen längere und verstärkte Nachblutungen nach/während dem Ziehen von Zähnen auf?
8. Wurden Ihnen bei einer Operation bereits Blutkonserven oder Blutprodukte gegeben? Wenn ja, bitte geben Sie die Art der Operation(en) an.
9. Gab oder gibt es in der Familie Fälle von Blutungsneigungen?
10. Nehmen Sie Schmerz- oder Rheumamittel ein? Wenn ja, bitte Namen des Medikaments eintragen.
11. Nehmen Sie weitere freiverkäufliche Medikamente ein, die Sie nicht vom Arzt verordnet bekommen haben? Wenn ja, bitte Namen der Medikamente eintragen.
12. Nur von Frauen zu beantworten: Haben Sie den Eindruck, dass Ihre Monatsblutungen verlängert (>7 Tage) und/oder verstärkt sind (z. B. häufiger Tampon- oder Bindenwechsel)?

Die Blutungsanamnese wird als unauffällig bezeichnet, wenn alle Fragen mit »Nein« beantwortet werden. Eine auffällige Blutungsanamnese sollte durch eine weiterführende ärztliche Untersuchung verifiziert werden (Koscielny et al. 2004; Pfanner et al. 2007). Unter Umständen kann eine auffällige Blutungsanamnese durch eine nicht hämostaseologische Erkrankung erklärt werden. So kann eine arterielle Hypertonie zur Epistaxis führen (Beran et al. 1987), Patienten mit Zahnfleischentzündung können unter Zahnfleischbluten und Patientinnen mit einem Uterus myomatosus unter einer Menorrhagie leiden (Edlund et al. 1996; Kadir et al. 1998).

**! Eine standardisierte Blutungsanamnese ist die Basis jeder weiterführenden präoperativen Hämostasediagnostik.**

Die Kombination aus einer standardisierten Blutungsanamnese mit der bisherigen Labordiagnostik, ergänzt durch einen Test zur primären Hämostase, zeigt die besten Ergebnisse zum präoperativen Erkennen und Ausschluss einer Hämostasestörung (Koscielny et al. 2004; Lillicrap et al. 2006; Pfanner et al. 2007; Tab. 38.2).

Die sichere Vorhersage einer perioperativen Blutung ist dennoch nur eingeschränkt möglich (Eika et al. 1978; Houry et al. 1995; Lind 1991; Macpherson et al. 1993; Rodgers u. Levin 1990; Velanovich 1991). Inwieweit die perioperative Bestimmung von Fibrinmonomeren und der Faktor-XIII-Aktivität im Verlauf das Auftreten einer perioperativen Blutung vorhersagen können, bleibt derzeit noch unklar (Korte 2006).

## 38.3 Vorgehen bei Risikopatienten

Bei Patienten mit positiver Blutungsanamnese sollte präoperativ eine vollständige hämostaseologische Abklärung erfolgen (Sramek et al. 1995; Koscielny et al. 2004; Pfanner et al. 2007). Im Anschluss sollte festgelegt werden, ob eine präoperative Therapie notwendig oder eine postoperative

**Tab. 38.2.** Positiver und negativer prädiktiver Wert zur Erkennung einer Hämostasestörung in Abbhängigkeit vom Screeningprofil (Koscielny et al. 2004)

| Screeningprofil | Erkannte Hämostase-störungen (%) | Nicht erkannte Hämostase-störungen (%) | Positiver prädiktiver Wert bzgl. der Erkennung von Hämostasestörungen (%) | Negativer prädiktiver Wert bzgl. des Ausschlusses von Hämostasestörungen (%) |
|---|---|---|---|---|
| sBA, Quick (TPZ), APTT, Thrombozytenzahl | 13 | 87 | 22 | 34 |
| sBA, Quick (TPZ), APTT, Thrombozytenzahl plus Blutungszeit | 73 | 27 | 55 | 61 |
| sBA, Quick (TPZ), APTT, Thrombozytenzahl plus PFA-100 (K/E) | 98 | 2 | 82 | 93 |

*ATPP* aktivierte partielle Thromboplastinzeit; *sBA* standardisierte Blutungsanamnese; *BZ* Blutungszeit; *K/E* Kollagen/Epinephrin; *PFA-100* »platelet function analyzer«; *TPZ* Thromboplastinzeit

Therapie im Blutungsfall ausreichend ist. Eine präoperative Therapie ist erforderlich, wenn von einem hohen operativen Blutungsrisiko ausgegangen werden muss. Hierzu zählen alle Eingriffe, bei denen die Transfusionswahrscheinlichkeit über 10% liegt oder bei denen bereits kleinere Einblutungen lebensbedrohlich sind oder zu Dauerschäden führen können.

## 38.4 Behandlungsstrategien

Operative Eingriffe bei Patienten mit bekannter Gerinnungsstörung, wie z. B. einer Hämophilie, eines Von-Willebrand-Syndroms oder einer anderen angeborenen Gerinnungsstörung, werden krankheitsspezifisch therapiert, in der Regel durch Substitution der betroffenen Hämostasekomponente. Die Eingriffe sollten möglichst frühzeitig geplant werden. Hierfür bedarf es einer engen Zusammenarbeit zwischen Chirurgie, Anästhesie und Hämostaseologie zur Absprache des Therapieregimes.

Bei Patienten mit nicht klassifizierbarer Gerinnungsstörung sollte zunächst die Notwendigkeit einer präoperativen Hämostasetherapie überprüft werden. Wird die Indikation hierzu gestellt, erfolgt ein eskalierendes Stufenschema beginnend mit der Gabe von DDAVP (Desmopressin; ► Kap. 50.1) kombiniert mit einem Antifibrinolytikum (Koscielny et al. 1998).

Bei Patienten mit medikamenteninduzierten Hämostasestörungen richtet sich das Vorgehen nach der Dringlichkeit des operativen Eingriffs. Bei elektiven Eingriffen können Blutungskomplikationen durch frühzeitiges Absetzen der Medikamente (z. B. 8 Tage bei Clopidogrelgabe oder 2 Tage bei Acetylsalicylsäure) verhindert werden (Gogarten et al. 2003). Als alternative Analgetika für NSAR können Paracetamol, COX-2-Hemmer, Tilidin-Naloxon oder Tramadol perioperativ eingesetzt werden.

Wird ASS als Sekundärprophylaxe nach arteriellen Ereignissen eingesetzt, muss beachtet werden, dass es nach Absetzen der Medikation zu erneuten thromboembolischen Komplikationen kommen kann. Bei Notfalleingriffen wird ein ähliches Vorgehen wie bei Patienten mit nicht klassifizierbarer Gerinnungsstörung empfohlen (DDAVP, Antifibrinolytikum, ggf. Thrombozyten).

### Literatur

Beran M, Stigendal L, Petruson B (1987) Haemostatic disorders in habitual nose-bleeders. J Laryngol Otol 101: 1020–1028
Borzotta AP, Keeling MM (1984) Value of the preoperative history as an indicator of hemostatic disorders. Ann Surg 200: 648–652
Cattaneo M, Federici AB, Lecchi A, Agati B, Lombardi R, Stabile F, Bucciarelli P (1999) Evaluation of the PFA-100 system in the diagnosis and therapeutic monitoring of patients with von Willebrand disease. Thromb Haemost 82 (1): 35–39
Cattaneo M, Lecchi A, Agati B, Lombardi R, Zighetti ML (1999) Evaluation of platelet function with the PFA-100 system in patients with congenital defects of platelet secretion. Thromb Res 96: 213–217
Eberl W, Wendt I, Schroeder HG (2005) Präoperatives Screening auf Hämostasestörungen vor Adenotomie und Tonsillektomie. Klin Pädiatr 217: 20–24
Edlund M, Blomback M, von Schoultz B, Andersson O (1996) On the value of menorrhagia as a predictor for coagulation disorders. Am J Hematol 53: 234–238
Eika C, Havig O, Godal HC (1978) The value of preoperative haemostatic screening. Scand J Haematol 21: 349–354
George JN, Shattil SJ (1991) The clinical importance of acquired abnormalities of platelet function. N Engl J Med 324: 27–39
Gogarten W, Van Aken H, Büttner J (2003) Rückenmarksnahe Regionalanästhesie und Thromboembolieprophylaxe/ antithrombotische Medikation. Anästh Intensivmed 44: 218–230
Harrison P, Robinson MS, Mackie IJ, Joseph J, McDonald SJ, Liesner R, Savidge GF, Pasi J, Machin SJ (1999) Performance of the platelet function analyser PFA-100 in testing abnormalities of primary haemostasis. Blood Coagul Fibrinolysis 10: 25–31
Houry S, Georgeac C, Hay JM, Fingerhut A, Boudet JJ (1995) A prospective multicenter evaluation of preoperative hemostatic screening tests. The American Journal of Surgery 170: 75–84

Kadir R, Economides D, Sabin Caroline, Owens D, Lee C (1998) Frequency of inherited bleeding disorders in women with menorrhagia. Lancet 351: 485–489

Kaplan E, Sheiner L, Boeckmann A, Roizen M, Beal S, Cohen S, Nicoll D (1985) The usefulness of preoperative laboratory screening. JAMA 253: 3576–3581

Kerényi A, Schlammadinger Á, Ajzner É et al. (1999) Comparison of PFA-100 closure time and template bleeding time of patients with inherited disorders causing defective platelet function. Thromb Res 96: 487

Kitchens CS (2005) To bleed or not to bleed? Is that the question for the PTT? J Thromb Haemost 3: 2607–2611

Korte W (2006) Fibrinmonomer und Faktor XIII. Neues Konzept bei ungeklärter intraoperativer Blutungsneigung Hämostaseologie 26: 30–35

Koscielny J, Kiesewetter H, Tempelhoff GF (2006) Platelet Function Analyzer (PFA)-100® closure time in the evaluation of platelet disorders and platelet function. J Thromb Haemost 4: 1426–27

Koscielny J, Tempelhoff GF, Ziemer S, Radtke H, Schmutzler M, Sinha P, Salama A, Kiesewetter H, Latza R (2004) A Practical Concept for Preoperative Management in Patients with Impaired Primary Hemostasis. Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis 10: 155–166

Koscielny J, Ziemer S, Radtke H, Pruss A, Schmutzler M, Sinha P, Salama A, Kiesewetter H, Latza R (2004) A Practical Concept for Preoperative Identification in Patients with Impaired Primary Haemostasis. Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis 10 (3): 195–204

Koscielny J, Blaicher AM, Felfernig D, Latza R, Wenzel E, Kiesewetter H (1998) Consensus use of desmopressin and antifibrinolytics in three university clinics. Anaesthesia 53: 60–62

Kußmann J, Koller M, Heinke T, Rothmund M (1997) Die Bedeutung der präoperativen Gerinnungsanalytik für die Einschätzung des Blutungsriskos in der Allgemeinchirurgie. Chirurg 68: 684–688

Lillicrap D, Nair SC, Srivastava A (2006) Laboratory issues in bleeding disorders. Haemophilia 12 (Suppl 3): 68–75

Lind SE (1991) The bleeding time does not predict surgical bleeding. Blood 77: 2547–2552

Macpherson CR, Jacobs P, Dent DM (1993) Abnormal perioperative haemorrhage in asymptomatic patients is not predicted by laboratory testing. S Afr Med J 83: 106–108

Mammen E, Comp P, Gosselin R, Greenberg C, Hoots W, Kessler C, Larkin E, Liles D, Nugent D (1998) PFA-100™ System: A new method for assessment of platelet dysfunction. Sem Thromb Haemost 24: 195–202

Miller CH, Lenzi R, Breen C (1987) Prevalence of von Willebrand's disease among U.S. adults. Blood 70: 377–378

Pfanner G, Koscielny J, Pernerstorfer T et al. (2007) Die präoperative Blutungsanamnese. Empfehlungen der Arbeitsgruppe perioperative Gerinnung (AGPG) der Österreichischen Gesellschaft für Anästhesiologie, Reanimation und Intensivmedizin (ÖGARI). Anästhesist 56: 604–11

Rodeghiero F, Castaman G (1987) Epidemiological investigation of the prevalence of von Willebrand`s disease. Blood 69: 454

Rodgers RP, Levin J (1990) A critical reappraisal of the bleeding time. Sem Throm Hemost 16: 1–20

Rohrer MJ, Michelotti MC, Nahrwold DL (1988) A prospective evaluation of the efficacy of preoperative coagulation testing. Ann Surg 208: 554–557

Sadler JE (2003) Von Willebrand disease type 1: a diagnosis in search of a disease. Blood 101: 2089–2093

Schweizerische Gesellschaft für Gastroenterologie (2005) Position statement on laboratory testing before ambulatory elective endoskopic procedures. Gastrointest Endosc 61: 189–194; www.sggssg.ch

Srámek A, Eikenboom J, Briet E, Vandenbroucke J, Rosendaal F (1995) Usefulness of patient interview in bleeding disorders. Arch Intern Med 155: 1409–1415

Strauß J, Becke K, Schmidt J; stellvertretend für den wissenschaftlichen Arbeitskreis Kinderanästhesie der Deutschen Gesellschaft für Anästhesie und Intensivmedizin (DGAI) (2006) Auf die Anamnese kommt es an. Deutsches Ärzteblatt 103 (28–29): A 1948

Velanovich V (1991) The value of routine preoperative laboratory testing in predicting postoperative complications: A multivariate analysis. Surgery 109: 236–243

Vorstand und Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer (2003) Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten, 3. Auf. Köln: Deutscher Ärzte-Verlag

Werner E, Broxson E, Tucker E, Giroux D, Shults J, Abshire T (1993 ) Prevalence of von Willebrand disease in children: Multietnic study. J Pediatrics 123: 893–898

Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer und Paul-Ehrlich-Institut (2005) Richtlinien zur Blutgruppenbestimmung und Bluttransfusion (Hämotherapie), 4. Aufl. Köln: Deutscher Ärzte-Verlag

# 41 Unklare Thrombozytopenie

*V. Kiefel*

## Einleitung

Eine Thrombozytopenie kann Folge einer verminderten Thrombozytopoese, eines beschleunigten Abbaus bzw. Verbrauchs von Thrombozyten oder einer vermehrten Speicherung in der Milz sein. Das Lebensalter des Patienten, begleitende Symptome oder Begleiterkrankungen können weitere Hinweise auf die Diagnose geben.

Bei der Therapie einer Thrombozytopenie und ihrer möglichen Folgen wird eine prophylaktische Behandlung, bei der das Risiko einer schwerwiegenden Blutungskomplikation vermindert werden soll, von einer Therapie bei manifester Blutung unterschieden. Für die prophylaktische Indikation zur Therapie spielen neben einer klinischen Einschätzung der Blutungsneigung sogenannte Triggerwerte für die Thrombozytenzahl im peripheren Blut eine Rolle.

## 41.1 Ursachen für die Entstehung einer Thrombozytopenie

Die Zahl zirkulierender Thrombozyten wird durch die Rate der Thrombozytopoese, durch die mittlere thrombozytäre Zirkulationszeit und durch die Verteilung der Thrombozyten auf verschiedene »Kompartimente« beeinflusst. Diese 3 Einflussgrößen kann man grundsätzlich durch die Untersuchung der Verteilung und der Kinetik autologer, markierter Thrombozyten ($^{51}$Cr, $^{111}$In) bestimmen.

Das Ausmaß der Thrombozytopoese oder der Thrombozytenumsatz im Steady State (in dem die Thrombozytenzahl innerhalb des Beobachtungszeitraums konstant bleibt) können aus mittlerer Thrombozytenlebenszeit und Thrombozytenzahl unter Berücksichtigung der Milzgröße geschätzt werden. Der Thrombozytenumsatz beträgt bei normalen Individuen zwischen 25 und $73 \times 10^9$/l pro Tag (Branehög et al. 1974).

## 41.2 Diagnostik

Wenn bei einer elektronischen Zählung eine Thrombozytopenie festgestellt wird und eine Diskrepanz zwischen der Erniedrigung der Thrombozytenzahl und dem Ausmaß der Blutungsneigung besteht, sollte der Befund einer Thrombozytopenie zunächst abgesichert werden. Falsch niedrige Thrombozytenzahlen können vorgetäuscht werden durch Makrothrombozyten und Agglutinationsphänomene in mit EDTA antikoagulierten Blutproben (Pseudothrombozytopenie, Abb. 41.1) oder einen Plättchensatellitismus (Thrombozyten, Granulozyten).

Diese Phänomene können mithilfe eines Blutausstrichs festgestellt werden. Pseudothrombozytopenien treten vor allem in Proben auf, die mit EDTA antikoaguliert sind.

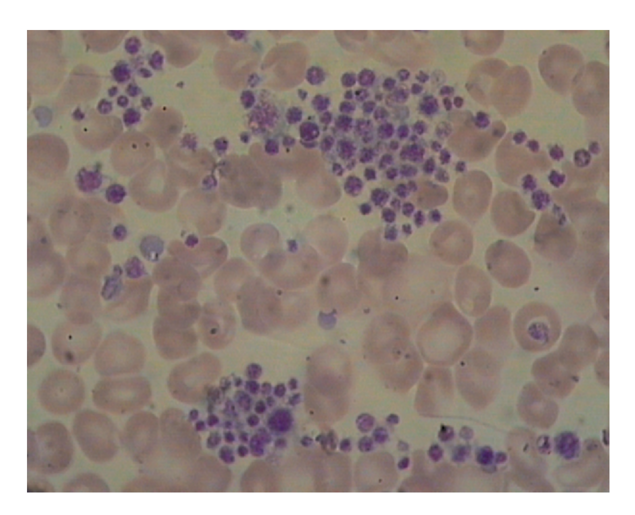


**Abb. 41.1.** Pseudothrombozytopenie: mit EDTA antikoagulierte Blutprobe

Häufiger findet man Pseudothrombozytopenien bei Patienten, die den GP-IIb-IIIa-Komplex-Inhibitor Abciximab erhalten. Die korrekte Thrombozytenzahl bei Patienten mit einer Pseudothrombozytopenie erhält man durch sofortiges Zählen einer Probe oder durch manuelle Zählung einer Probe, die mit einem anderen Antikoagulans ungerinnbar gemacht wurde.

### 41.2.1 Anamnese, begleitende Symptome

Begleitende Erkrankungen und Hinweise auf die Dauer einer möglicherweise bestehenden Blutungsneigung können anamnestisch erfragt werden. Sie liefern oft wertvolle Hinweise auf die zugrundeliegende Erkrankung (siehe Übersicht).

**Merkmale, die Hinweise auf die Ursache einer Thrombozytopenie geben können**

- Lebensalter
- zeitlicher Zusammenhang des Eintritts einer Thrombozytopenie mit anderen Ereignissen
- auffälliger zeitlicher Verlauf
  - Beginn der Thrombozytopenie während der Schwangerschaft
  - Beginn nach Medikamenteinnahme
  - Beginn nach Transfusion
  - Beginn wenige Tage nach einem (viralen) Infekt
  - Synchronisierung thrombozytärer Phasen mit dem weiblichen Zyklus
- begleitende klinische Symptome
  - Skelettanomalien
  - Symptome, die auf einen Immundefekt hinweisen
  - zerebrale Symptome
  - Hautsymptome (Ekzeme)
  - thromboembolische Ereignisse
  - Splenomegalie
  - Nephropathie
  - Innenohrschwerhörigkeit
  - Hämangiome
- Laborbefunde
  - morphologische Auffälligkeiten im Blutausstrich
    - Agglutinationsphänomene: Pseudothrombozytopenie, Satellitismus
    - Makrothrombozyten
    - Einschlusskörperchen in Granulozyten
    - Fragmentozyten
  - Anäme, Laborparameter, die auf eine Hämolyse schließen lassen
  - Autoantikörper, Alloantikörper gegen Thrombozyten
  - Autoantikörper gegen Erythrozyten
  - Laborparameter, die Hinweise auf eine disseminierte intravasale Gerinnung (DIC) geben
  - Antikörper gegen PF4 oder Heparinkomplexe (HIT=heparininduzierte Thrombozytopenie)
- erhöhte Aktivitäten von Transaminasen (Leberschädigung)

Eine Thrombozytopenie kann in allen Lebensaltern auftreten. Beim **Neugeborenen** kann eine Thrombozytopenie ihre Ursache in einer Sepsis oder einer Infektion haben. Bei besonders ausgeprägter Thrombozytopenie unmittelbar nach der Geburt ohne Zeichen einer schweren Allgemeinerkrankung ist an eine immunologische Ursache durch mütterliche Antikörper zu denken: die neonatale Alloimmunthrombozytopenie (normale Thrombozytenzahl bei der Mutter) oder passiv übertragene Autoantikörper bei Autoimmunthrombozytopenie der Mutter.

Ebenfalls im Säuglingsalter kann sich eine der seltenen hereditären oder familiären Formen manifestieren (▶ Kap. 30.3). Bestimmte **Skelettanomalien** fallen bei Neugeborenen mit einem TAR-Syndrom (Thrombozythopenie mit Radiusaplasie), bei amegakaryozytärer Thrombozytopenie mit radioulnarer Synostose und bei Fanconi-Anämie auf. Begleitende Symptome einer Immundefizienz und eine Neigung zu Ekzemen finden sich beim Wiskott-Aldrich-Syndrom. Bei Thrombozytopenie von Patienten im Kindesalter mit Hämangiomen kann ein nichtimmunologisch bedingter Verbrauch von Thrombozyten vorliegen (Kasabach-Merritt-Syndrom).

Bei einer Thrombozytopenie, die während der **Schwangerschaft** auftritt, kann es sich um die Manifestation eines HELLP-Syndroms (einer Symptomkombination aus Thrombozytopenie, Hämolyse und Leberschädigung) oder um eine sogenannte schwangerschaftsassoziierte Thrombozytopenie handeln. Nicht selten manifestiert sich auch eine Autoimmunthrombozytopenie während der Schwangerschaft. Ausgeprägte zyklusabhängige Schwankungen der Thrombozytenzahl finden sich bei der zyklischen Thrombozytopenie, die häufig eine autoimmune Genese hat.

Ebenfalls mit einer Hämolyse geht die Thrombozytopenie bei TTP (thrombotisch-thrombozytopenische Purpura), HUS (hämolytisch-urämisches Syndrom) oder einer autoimmunhämolytischen Anämie vom Wärmetyp (Evans-Syndrom) einher. Wenn bei einer kombinierten Anämie mit Zeichen einer Hämolyse und Thrombozytopenie ein direkter Antiglobulintest (direkter Coombs-Test) eine vermehrte Beladung der Erythrozyten mit erythrozytären Autoantikörpern anzeigt, kann der Nachweis thrombozytärer Autoantikörper die Diagnose eines Evans-Syndroms sichern.

Spontan auftretende **ZNS-Symptome** (Bewusstseinstrübung, Koma, zerebrale Anfälle) in erkennbarem zeitlichem Zusammenhang mit einer Thrombozytopenie sollten nach Ausschluss einer zerebralen Blutung an eine TTP denken lassen.

Tritt eine Thrombozytopenie in zeitlichem Zusammenhang mit einer **Transfusion** auf, kann es sich um den mittlerweile seltenen Fall einer posttransfusionellen Purpura handeln, in diesem Fall liegt das Intervall zwischen Transfusion und Abfall der Thrombozytenzahlen bei 5–10 Tagen. Tritt die Thrombozytopenie unmittelbar nach einer Transfusion eines plasmahaltigen Blutpräparats ein, kann eine passive alloimmune Thrombozytopenie vorliegen.

Thrombozytopenien können Folge einer **Einnahme von Medikamenten** sein. Zytotoxische Medikamente, die bei der Chemotherapie einer malignen Erkrankung eingesetzt werden, verursachen aufgrund ihres Wirkungsprinzips fast regelmäßig eine hyporegeneratorische Thrombozytopenie. Medikamente können auch durch immunologische

Mechanismen eine Thrombozytopenie mit beschleunigtem Abbau induzieren.

Eine besonders häufige und klinisch bedeutsame Form, die heparininduzierte Thrombozytopenie, kann mit thromboembolischen Komplikationen einhergehen (▶ Kap. 31.1.3). Die bei dieser Nebenwirkung einer Heparintherapie beobachtete Thrombozytopenie weist selten Thrombozytenwerte unter $20 \times 10^9$/l auf. Ein weiterer, seltener Typ medikamentinduzierter Thrombozytopenien wird nach Einnahme bestimmter Substanzen wie Chinin, Chinidin oder Rifampicin beobachtet. Diese Immunthrombozytopenien, die durch medikamentabhängige Antikörper verursacht werden (▶ Kap. 30.2), weisen oft extrem niedrige Thrombozytenwerte auf, sie lassen sich meist bei unabsichtlichen Reexpositionen reproduzieren.

**Cave**

Vor absichtlichen Reexpositionsversuchen ist dringend abzuraten.

Thrombozytopenien sind eine häufige Begleiterscheinung von **Infektionskrankheiten**. Im Kindesalter treten akute Autoimmunthrombozytopenien häufig nach banalen Virusinfekten auf. Bei Patienten mit einer Sepsis ist häufig eine begleitende Thrombozytopenie festzustellen.

### 41.2.2 Diagnostische Verfahren

Die Laboruntersuchung einer unklaren Thrombozytopenie sollte relativ früh die Durchsicht eines frisch angefertigten **Blutausstrichs** einschließen. Neben den bereits erwähnten Artefakten, die eine Thrombozytopenie vortäuschen können, können weitere morphologische Befunde Hinweise auf die zugrunde liegende Diagnose geben. Neben Befunden, die Hinweise auf eine hämatologische Grunderkrankung (Leukämie) geben, findet man gelegentlich stark vergrößerte Thrombozyten, die Hinweis auf ein Bernard-Soulier-Syndrom sein können oder eines der Syndrome, denen Mutationen des MYH-9-Gens zugrunde liegen (May-Hegglin-Anomalie, Sebastian-Plättchen-Syndrom, Fechtner-Syndrom, Epstein-Syndrom, ▶ Kap. 30.3). Bei einem Teil der MYH-9-assoziierten Thrombozytopenien sind Einschlusskörperchen in den neutrophilen Granulozyten zu finden. Bei einzelnen Erkrankungen aus dieser Gruppe kommt es neben der Thrombozytopenie zu Nephropathien, Innenohrschwerhörigkeit und Katarakten.

Ein verkleinertes Thrombozytenvolumen weisen in der Regel Patienten mit einem Wiskott-Aldrich-Syndrom auf. Die Bestimmung des mittleren Thrombozytenvolumens wird man bei diesen Patienten meist mit einem Zellcounter vornehmen. Bei Feststellung von Fragmentozyten im Blutausstrich ist differenzialdiagnostisch eine TTP oder ein HUS in Betracht zu ziehen.

Das zuverlässigste Verfahren zur Klärung der Frage, ob eine Thrombozytopenie aufgrund einer Einschränkung der Thrombozytopoese entstanden ist, ob ihr eine Verteilungsstörung oder ein beschleunigter Verbrauch oder Abbau zugrunde liegt, besteht in der Untersuchung der **Thrombozytenkinetik** mit radioaktiv markierten Thrombozyten ($^{111}$In). Die diagnostische Abklärung einer Thrombozytopenie wird durch die Zuordnung zu einem der 3 Befundmuster erleichtert:

- beschleunigter Thrombozytenabbau,
- hyporegenerative Thrombozytopenie,
- Verteilungsstörung.

Einer **Verteilungsstörung** liegt meist eine deutlich bis stark vergrößerte Milz zugrunde, sodass eine orientierende Bestimmung der Milzgröße zum Untersuchungsgang bei einer Thrombozytopenie unklarer Genese gehört. Bei der Untersuchung der Thrombozytenkinetik mit radioaktiv markierten Plättchen ist der Prozentsatz der wiedergewinnbaren Thrombozyten nach Erreichen des Verteilungsgleichgewichts bei normalen Individuen ein Maß für den Anteil der Thrombozyten, die sich in der Zirkulation befinden. Dieser Anteil liegt bei normalen Individuen bei ca. 60–70%. Bei Patienten mit stark vergrößerter Milz vermindert sich der Anteil zirkulierender Thrombozyten, was zu der Entstehung einer Thrombozytopenie mit meist mäßig verminderten Thrombozytenzahlen führt.

Eine **hyporegenerative Thrombozytopenie** kann angeboren sein, sie ist Merkmal von TAR-Syndrom, Fanconi-Anämie, Wiskott-Aldrich-Syndrom, kongenitaler amegakaryozytärer Thrombozytopenie oder amegakaryozytärer Thrombozytopenie mit radioulnarer Synostose (▶ Kap. 30.3).

Ein **beschleunigter Abbau oder Verbrauch** ist Ursache der Thrombozytopenie bei immunologisch ausgelösten Thrombozytopenien, bei TTP/HUS, bei der Thrombozytopenie im Zusammenhang mit einer DIC, Sepsis und beim Kasabach-Merritt-Syndrom.

**Unterscheidung zwischen hyporegeneratorischer Thrombozytopenie und beschleunigtem Thrombozytenumsatz**

Verfahren, die eine solche Unterscheidung unterstützen, sind:

- Megakaryozytenzahl in Knochenmarkbiopsie bzw. -punktat
- Messung des Prozentsatzes retikulierter Thrombozyten
- auf die Thrombozytenzahl normierte Konzentration von Glykokalicin (GCI)
- Thrombopoetinspiegel

Da die Verfahren zur Untersuchung der Thrombozytenkinetik unter Verwendung von Radionukliden sehr aufwendig sind, spielen sie für die übliche klinische Untersuchung von Patienten keine praktische Rolle mehr. Die folgenden Verfahren zur Unterscheidung zwischen hyporegeneratorischer Thrombozytopenie und hyperregeneratorischer Thrombozytopenie sind weniger invasiv und aufwendig (Kurata et al. 2001).

Ein erster Hinweis auf eine Thrombozytopenie infolge einer reduzierten Thrombozytopoese kann sich aus einer mikroskopischen Untersuchung des Materials aus einer **Knochenmarkbiopsie** oder einer **Knochenmarkpunktion** ergeben, wenn diese eine auffallende Verminderung der Megakaryozyten aufweist. Diese Untersuchung spielt bei der klinischen Untersuchung von Patienten die größte Rolle. Junge Thrombozyten weisen mit Thiazolorange anfärbbare RNA-Reste auf, die durchflusszytometrisch bestimmt werden können. Dies macht man sich bei der Bestimmung von »**retikulierten Plättchen**« zunutze (Salvagno et al. 2006; Sakakura et al. 2005). Bei diesem Parameter spricht ein deutlich erhöhter Prozentsatz für eine gesteigerte Thrombozytopoese. Die Bestimmung von Glykokalicin, einem proteolytischen Spaltprodukt des membranständigen thrombozytären Glykoproteins Ib(α) im Plasma, soll ebenfalls den Thrombozytenumsatz widerspiegeln. Da die **Glykokalicinkonzentration** aber auch von der Thrombozytenzahl abhängt, wird zweckmäßigerweise ein auf eine Thrombozytenzahl von $250\times10^9$/l normierter Index (GCI) angegeben (Beer et al. 1994).

Auch der **Thrombopoetinspiegel** weist Unterschiede bei Thrombozytopenien unterschiedlicher Genese auf. Er ist normal oder geringgradig erhöht bei hyperregeneratorischen Thrombozytopenien wie der Autoimmunthrombozytopenie, aber meist deutlich bis stark erhöht bei eingeschränkter Thrombozytopoese (Hou et al. 1998).

Der Nachweis **thrombozytärer Autoantikörper** erlaubt oft die Sicherung der Diagnose einer Autoimmunthrombozytopenie, **thrombozytäre Alloantikörper** im Blut der Mutter eines thrombozytopenischen Neugeborenen sichert die Diagnose einer neonatalen Alloimmunthrombozytopenie. Thrombozytenspezifische Alloantikörper sind bei Transfusionsreaktionen nachweisbar, die mit einer Thrombozytopenie einhergehen (► Kap. 60).

## 41.3 Therapie

### 41.3.1 Thrombozytentransfusion

Thrombozyten werden dann transfundiert, wenn es aufgrund einer Thrombozytopenie zu einer manifesten Blutung gekommen ist, die durch andere Maßnahmen nicht mehr zu stillen ist, oder im Sinne einer prophylaktischen Thrombozytentransfusion, wenn mit einer größeren Wahrscheinlichkeit mit einer solchen Blutung zu rechnen ist. Eine übliche therapeutische Dosis beträgt 2 bis $4\times10^{11}$ Thrombozyten.

Für die prophylaktischen Indikationen stellt sich die Frage, welche Kriterien der Entscheidung für die Transfusion zugrunde zu legen sind, um einerseits möglichst geringe Risiken für eine schwere Blutung einzugehen und andererseits die Zahl der Thrombozytentransfusionen und damit die mit der Gabe von Thrombozyten entstehenden Nebenwirkungen und Kosten möglichst gering zu halten. Für hyporegenerative Thrombozytopenien sind in einschlägigen Leitlinien aufgrund von ausgewerteten Studien (British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force 2003; Greinacher et al. 2006) Triggerwerte für die Transfusionen bei verschiedenen klinischen Situationen publiziert worden (► Kap. 50.6).

Bei hyporegeneratorischen Thrombozytopenien im Steady State bei Patienten mit hämatologisch-onkologischen Erkrankungen ohne zusätzliche Risiken für die Auslösung einer Blutung wird zurzeit ein Trigger von $10\times10^9$ Thrombozyten/l empfohlen, wenn zusätzliche Risiken für die Auslösung einer Blutung hinzutreten (z.B. Infektionen, eine zusätzliche plasmatische Gerinnungsstörung, GvHK (Graft-versus-Host-Krankheit) $20\times10^9$ Thrombozyten/l.

Bei Patienten mit Autoimmunthrombozytopenie sind prophylaktische Thrombozytentransfusionen im Regelfall nicht sinnvoll, da wegen der Autoantikörper auch transfundierte Thrombozyten umgehend abgebaut werden. Sie können bei bedrohlichen Blutungen indiziert sein. Bei Erkrankungen, bei denen eine Thrombozytopenie teilweise Folge einer Aktivierung des Gerinnungssystems ist (TTP/HIT), besteht in den meisten Situationen eine Kontraindikation zur Thrombozytentransfusion.

Zur Thrombozytentransfusion stehen grundsätzlich 2 Typen von Präparaten zur Verfügung: Thrombozytapheresekonzentrate und gepoolte Thrombozytenkonzentrate, die aus 4 (bis 6) Vollblutspenden hergestellt werden. Eine Indikation zur Gabe von Apheresekonzentraten ist dann gegeben, wenn für einen alloimmunisierten Patienten ein Konzentrat von einem ausgewählten Einzelspender zur Verfügung gestellt werden soll.

### 41.3.2 Sonstige therapeutische Maßnahmen

Bei Patienten mit einigen schweren hereditären Thrombozytopenien besteht eine Möglichkeit der Therapie nur in der Behandlung der Grundkrankheit durch Transplantation hämatopoetischer Stammzellen (► Kap. 30.3). Patienten mit Autoimmunthrombozytopenie werden mit Kortikosteroi-

den und hoch dosiertem intravenösen IgG behandelt oder mit verschiedenen Medikamenten, die eine Suppression der humoralen Immunantwort bewirken (▶ Kap. 30.2).

Eine Splenektomie wird gelegentlich bei Patienten mit einem konservativ nicht beherrschbaren Krankheitsverlauf vorgenommen. Auch die kürzlich eingeführten Thrombopoetinanaloga (▶ Kap. 50.7) werden bei Patienten mit Autoimmunthrombozytopenie eingesetzt. Bei Blutungen kann ein zusätzlicher Versuch mit Fibrinolysehemmern gemacht werden. Die Anwendung von rekombinantem aktivierten Faktor VII (▶ Kap. 50.5) kann in extremen Einzelfällen von unstillbaren Blutungen bei Thrombozytopenie wirksam sein, wenn diese sich durch andere Maßnahmen nicht beherrschen lassen.

## Literatur

Beer JH, Buchi L, Steiner B (1994) Glycocalicin: a new assay--the normal plasma levels and its potential usefulness in selected diseases. Blood 83: 691–702

Branehög I, Kutti J, Weinfeld A (1974) Platelet survival and platelet production in idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP). Br J Haematol 27: 127–143

British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force (2003) Guidelines for the use of platelet transfusions. Br J Haematol 122: 10–23

Greinacher A, Kiefel V, Klüter H, Kroll H, Pötzsch B, Riess H (2006) Empfehlungen zur Thrombozytentransfusion der Thrombozyten-Arbeitsgruppe der DGTI, GTH und DGHO. Transfusion Medicine and Hemotherapy 33: 528–543

Hou M, Andersson PO, Stockelberg D, Mellqvist UH, Ridell B, Wadenvik H (1998) Plasma thrombopoietin levels in thrombocytopenic states: implication for a regulatory role of bone marrow megakaryocytes. Br J Haematol 101: 420–424

Kurata Y, Hayashi S, Kiyoi T, Kosugi S, Kashiwagi H, Honda S, Tomiyama Y (2001) Diagnostic value of tests for reticulated platelets, plasma glycocalicin, and thrombopoietin levels for discriminating between hyperdestructive and hypoplastic thrombocytopenia. Am J Clin Pathol 115: 656–664

Sakakura M, Wada H, Abe Y, Nishioka J, Tomatsu H, Hamaguchi Y, Oguni S, Shiku H, Nobori T (2005) Usefulness of measurement of reticulated platelets for diagnosis of idiopathic thrombocytopenic purpura. Clin Appl Thromb Hemost 11: 253–261

Salvagno GL, Montagnana M, Degan M, Marradi PL, Ricetti MM, Riolfi P, Poli G, Minuz P, Santonastaso CL, Guidi GC (2006) Evaluation of platelet turnover by flow cytometry. Platelets 17: 170–177

# 39 Operationsplanung bei Patienten mit hämorrhagischer Diathese

*J. Koscielny*

## Einleitung

Patienten mit hämorrhagischer Diathese sind während operativer Eingriffe besonders durch Blutungen gefährdet. Daher ist eine präoperative Vorbereitung mit Erstellung eines Therapiekonzepts erforderlich. Das Vorgehen orientiert sich an dem Blutungsrisiko des Eingriffs und dem Schweregrad der Gerinnungsstörung. Nach entsprechender Vorbereitung können auch große operative Eingriffe ohne erhöhtes Risiko durchgeführt werden.

## 39.1 Risikobewertung

Das perioperative Blutungsrisiko eines Patienten mit einer hämorrhagischen Diathese wird von mehreren Faktoren beeinflusst (Gogarten et al. 2003; Pfanner et al. 2007). Dazu zählen:

- Traumatisierungsgrad,
- Art und klinische Ausprägung der hämorrhagischen Diathese,
- aktueller klinischer Zustand (internationale ASA-Stadien der American Society of Anesthesiology),
- Medikation.

Aus klinischer Sicht besteht ein besonders hohes perioperatives Blutungsrisiko, wenn eine oder mehrere der folgenden Bedingungen anzutreffen sind:

- »große« traumatisierende Operationen, z.B. aus den Bereichen der Kardiochirurgie, Neurochirurgie, Tumorchirurgie, Orthopädie (Knie, Hüfte, Wirbelsäule), Kieferchirurgie (ausgedehnte Eingriffe),
- Operationsgebiete mit hoher Konzentration an fibrinolyseaktivierenden Substanzen (z.B. Uterus oder Prostata),
- schwerwiegende hämorrhagische Diathese (z.B. angeborene oder erworbene plasmatische Hämostasestörungen <10% Restaktivität, Von-Willebrand-Syndrom Typ 3, angeborene Thrombozytenfunktionsstörungen, erworbene Thrombozytenfunktionsstörungen bei fortgeschrittenen Organerkrankungen oder bei Kombinationen aus gerinnungshemmenden Medikamenten),
- ASA-Stadium ≥III (schwere Allgemeinerkrankung mit Leistungsminderung).

Bei Hemmkörpern gegen Gerinnungsfaktoren, einer besonders schweren Form einer hämorrhagischen Diathese, sollte die Indikation zu einem operativen Eingriff kritisch abgewogen werden. Dies gilt insbesondere für elektive Eingriffe. Notfalleingriffe sollten jedoch wegen der sehr großen Blutungsgefährdung nicht verzögert werden.

**! Das perioperative Blutungsrisiko bei Patienten wird durch die Art der hämorrhagischen Diathese, deren klinischer Ausprägung, dem aktuellen klinischen Zustand, der Medikation und der Art und Größe der Operation bestimmt.**

## 39.2 Operative und postoperative Führung

Zur Vermeidung perioperativer Blutungen bei Patienten mit Gerinnungsstörungen sollten einige einfache Regeln beachtet werden (Kußmann et al. 1997):

- Bewertung des Blutungsrisikos,
- Festlegung des hämostaseologischen Managements mit Substitutions- und Medikamentenplan,
- Einhaltung der Substitutionsintervalle,
- klinisches und hämostaseologisches Monitoring,
- ausreichende Depothaltung der benötigten blutstillenden Medikamente und Faktorenkonzentrate,
- atraumatische Operationstechniken,
- Vermeidung von intramuskulären Injektionen.

Wegen der zusätzlichen Blutungsgefahr ist die Gabe von Acetylsalicylsäure oder anderer nichtsteroidaler Antirheumatika (NSRA) als Schmerzmittel unmittelbar perioperativ kontraindiziert. Als alternative Analgetika für NSAR können Paracetamol, COX-2-Hemmer, Tilidin-Naloxon oder Tramadol perioperativ eingesetzt werden (Koscielny et al. 2004; Pfanner et al. 2007).

Das Auftreten von thromboembolischen Gefäßverschlüssen wird bei Patienten mit hämorrhagischen Diathesen selten beschrieben (Small et al. 1983; Ritchie et al. 1992; Djulbegovic et al. 1995; Dargaud et al. 2003; Franchini et al. 2003). Daher wird eine medikamentöse Thromboseprophylaxe nur nach Korrektur der Gerinnungsstörung empfohlen. In diesem Fall richtet sich die Dosierung ähnlich wie bei gerinnungsgesunden Patienten nach dem thrombophilen Risikoprofil des Eingriffs. Grundsätzlich sollten alle Patienten mit einer hämorrhagischen Diathese unter perioperativer Substitutionstherapie eine physikalische Prophylaxe erhalten. Über die Dauer der einzelnen prophylaktischen Maßnahmen besteht bei Patienten mit

**Tab. 39.1.** Perioperative Therapie plasmatischer Gerinnungsstörungen für Operationen mit hohem Blutungsrisiko *(kursiv in Klammern: Angaben für Operationen mit geringerem Blutungsrisiko)*

| Hämostasestörung | Therapeutisches Vorgehen | | |
|---|---|---|---|
| | **Präparat** | **Zielwert** | **Dosisberechnung** |
| Fibrinogenmangel | Fibrinogenkonzentrat | – >1 g/l<br>– *(0,5–1 g/l)* | – Fibrinogendosis (g) = erwünschter Anstieg (g/l) × Plasmavolumen (l)<br>– Plasmavolumen: ≈40 ml/kgKG<br>– Folgedosis nach ca. 36 h |
| Faktor-II-Mangel | PPSB[a] | – >50%<br>– *(20–50%)* | – Initialdosis (IE) = KG (kg) × gewünschter Faktorenanstieg (%)<br>– Folgedosis nach ca. 24 h |
| Faktor-V-Mangel | Frischplasma | >20% | – 15–20 ml pro kgKG<br>– Folgedosis nach ca. 12 h |
| Faktor-VII-Mangel | Faktor-VII-Konzentrat[b]<br>*oder* | – Präoperativ >50% *(20–30%)*<br>– dann 25–45% *(20–30%)* | – Initialdosis (IE) = KG (kg) × gewünschter F-VII-Anstieg (%) × 0,6<br>– Folgedosis nach ca. 3–5 h |
| | Aktivierter rekombinanter Faktor VII (rFVIIa) | Kein Zielwert | 15–30 μg/kgKG alle 6 h als Bolus für 2 Tage, dann im Verlauf alle 8–12 h |
| Faktor-VIII/IX-Mangel | Faktor-VIII/IX-Konzentrate, plasmatisch/ rekombinant[c] | – >50–100%<br>– *(30–50%)* | – Mittlere Initialdosis:<br>  – OP mit großen Wundflächen (Erwachsene): 50–80 IE/kgKG<br>  – OP mit kleinen Wundflächen (Erwachsene): 25–40 IE/kgKG<br>– Folgedosis nach individueller Recovery, i.d.R.:<br>  – bei Hämophilie A 2- bis 3-mal täglich<br>  – bei Hämophilie B 1- bis 2-mal täglich |
| Faktor-X-Mangel | PPSB[d] | – >50%<br>– *(20–50%)* | – Initialdosis: (IE) = KG (kg) × gewünschter Faktorenanstieg (%), maximal 40 *(20)* IE PPSB/kgKG<br>– Folgedosis nach ca. 24 h |
| Faktor-XI-Mangel | Frischplasma | – >20%<br>– *(15–20%)* | – Initialdosis: 15–20 ml/kgKG<br>– Folgedosis nach ca. 24 h |
| Faktor-XIII-Mangel | Faktor-XIII-Konzentrat | – >50–100%<br>– *(30–50%)* | – Präoperativ bis zu 35 E/kgKG<br>– dann 10–20 E/kgKG<br>– Folgedosis meist nach ca. 72 h |
| Zustand nach oraler Antikoagulation | PPSB[e] | – Quick-Wert >60%<br>– *(30–50%)* | – Initialdosis (IE) = KG (kg) × gewünschter Faktorenanstieg (%)<br>– Folgedosis nach ca. 6–8 h |
| vWF-Mangel | Faktor-VIII-Konzentrate mit vWF (1:1), vWF-Konzentrat (plasmatisch)<br>*oder*<br>DDAVP | – >50–100% RiCoF<br>– *(40–50%)* | – Initialdosis: KG (kg) × 50 *(25)* = IE<br>– Folgedosis: 1- bis 2-mal täglich nach individueller Recovery |
| $\alpha_2$-Antiplasmin-Mangel | Antifibrinolytika, z. B. Tranexamsäure | Kein Zielwert | Tranexamsäure: 3-mal 1 g täglich für mind. 3 Tage postoperativ |

[a] 1 IE PPSB/kgKG hebt die Aktivität des FII um 1–2% an; [b]PPSB-Gabe nur im Notfall; [c]PPSB-Gabe bei FIX-Mangel nur im Notfall; [d]1 IE PPSB/kgKG hebt die Aktivität des FX um 1–2% an; [e]1 IE PPSB/kgKG hebt die Aktivitäten von FVII und FIX um 0,5–1%, von FII und FX um 1–2% an.
*DDAVP* Desmopressin; *PPSB* Prothrombinkomplex; *RiCoF* Ristocetincofaktor

unterschiedlichen hämorrhagischen Diathesen derzeit kein Konsens.

**Ein standardisiertes und systematisches perioperatives Prozedere bei Patienten mit hämorrhagischer Diathese hilft, sowohl das Blutungs- und als auch das Thromboserisiko zu senken.**

### 39.2.1 Wahl des Krankenhauses

Da Patienten mit hämorrhagischen Diathesen eine besondere präoperative Vorbereitung und perioperative Führung bedürfen, sind hohe Anforderungen an eine ärztliche interdisziplinäre Zusammenarbeit und Logistik zu stellen. Folgende Punkte sollten erfüllt sein:

- Labor (24-Stunden-Besetzung) mit einer hämostaseologischen Einheit,
- Verfügbarkeit einer 24-Stunden-Rufbereitschaft mit hämostaseologischer Kompetenz,
- Notfalldepot mit gerinnungsaktiven Substanzen mit Hämostyptika (z.B. DDAVP, Antifibrinolytika) und plasmatischen Gerinnungsfaktorenkonzentraten sowie ein Blutdepot mit Thrombozytenkonzentraten,
- Möglichkeit der postoperativen, auch ambulanten Nachbetreuung.

### 39.2.2 Dosierungen

Für die Substitutionstherapie der meisten hämorrhagischen Diathesen hat die Bundesärztekammer bereits 2003 Leitlinien herausgegeben, die laufend aktualisiert werden. In den Tab. 39.1 und 39.2 sind diese Dosierungen orientierend zusammengefasst. Das detailierte Vorgehen wird in den entsprechenden Kapiteln beschrieben. Die Substitutionsdauer bzw. Anwendung der blutstillenden Medikamente erfolgt in der Regel bis zur Entfernung der Drainagen bzw. bis zur primären Wundheilung.

### 39.2.3 Monitoring

Bei Operationen mit hohem Blutungsrisiko ist ein engmaschiges Monitoring notwendig (Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten: Vorstand und wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer 2003, 2008). Der Operationsbeginn sollte 30–60 min nach einer DDAVP- oder einer Faktorengabe erfolgen, da zu diesem Zeitpunkt die maximale Wirksamkeit erreicht ist. Am Operationstag sind 2 Kontrollen das Minimum.

Bei komplikationslosem Verlauf können ab dem zweiten postoperativen Tag die Kontrollen auf 1-mal täglich reduziert werden. Sofern Zielwerte (mögliche Zielwerte Tab. 39.1 und 39.2) für den Einsatz der blutstillenden Maßnahmen vorliegen, sollte das Erreichen dieser Zielwerte über die gesamte blutungsgefährdete Zeit angestrebt werden.

### 39.2.4 Wahl des Anästhesieverfahrens

Blutungen können bei bestimmten Anästhesieverfahren, wie z. B. rückenmarksnahen Anästhesien, zu bleibenden Schäden führen. Deswegen gelten diese Anästhesieverfahren im Fall von Patienten mit hämorrhagischen Diathesen als kontraindiziert. Die Kontraindikation gilt nicht, wenn durch eine hämostaseologische Therapie die Störung korrigiert werden kann.

**Tab. 39.2.** Perioperative Therapie thrombozytärer hämorrhagischer Diathesen und der hämorrhagischen Diathese unklarer Genese

| Hämostasestörung | Therapeutischer Stufenplan | | |
|---|---|---|---|
| | 1. Stufe | 2. Stufe* | Folgende Stufen* |
| Thrombozytopenie (<50.000/μl) | Thrombozytenkonzentrate | Prednisolon 100 mg präoperativ über 4 Tage<br>bei bedrohlichen Blutungen zusätzlich Thrombozytenkonzentrate | IgG 0,4 g/kgKG i.v. über 4 Tage bei bedrohlichen Blutungen zusätzlich Thrombozytenkonzentrate |
| Thrombozytenfunktionsstörungen | DDAVP mit Tranexamsäure | Thrombozytenkonzentrate | |
| Hämorrhagische Diathese unklarer Genese | DDAVP mit Tranexamsäure | FFP 10 ml/kgKG | Thrombozytenkonzentrate |

*Falls vorherige Stufe ohne Effekt. *DDAVP* Desmopressin *FFP* »fresh frozen plasma;

## Literatur

Böck M, De Haan J, Beck KH, Gutensohn K, Hertfelder HJ, Karger R, Heim MU, Beeser H, Weber D, Kretschmer V (1999) Standardization of the PFA-100® platelet function test in 105 mmol/l bufffered citrate: effect of gender, smoking, and oral contraceptives. Br J Haematol 106: 898–904

Dargaud Y, Cruchaudet BB, Lienhart A et al. (2003) Spontaneous proximal deep vein thrombosis in a patient with severe haemophilia A. Blood Coagulation Fibrinolysis 14: 407–9

Djulbegovic B, Hannan MM, Bergman GE (1995) Concomitant Treatment with Factor-IX Concentrates and Antifibrinolytics in Hemophilia-B. Acta Haematologica 94: 43–48

Franchini M, Krampera M, Veneri D (2003) Deep vein thrombosis after orthopedic surgery in a patient with type I von Willebrand disease and mutations in the MTHFR and beta-fibrinogen genes. Thrombosis and Haemostasis 90: 963–64

Gogarten W, Van Aken H, Büttner J (2003) Rückenmarksnahe Regionalanästhesie und Thromboembolieprophylaxe/ antithrombotische Medikation. Anästh Intensivmed 44: 218–230

Koscielny J, Blaicher AM, Felfernig D, Latza R, Wenzel E, Kiesewetter H (1998) Consensus use of desmopressin and antifibrinolytics in three university clinics. Anaesthesia 53: 60–62

Koscielny J, Tempelhoff GF, Ziemer S, Radtke H, Schmutzler M, Sinha P, Salama A, Kiesewetter H, Latza R (2004) A Practical Concept for Preoperative Management in Patients with Impaired Primary Hemostasis. Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis 10: 155–166

Koscielny J, Kiesewetter H, Tempelhoff GF (2006) Platelet Function Analyzer (PFA)-100® closure time in the evaluation of platelet disorders and platelet function. J Thrombosis Haemostasis 4: 1426–27

Kußmann J, Koller M, Heinke T, Rothmund M (1997) Die Bedeutung der präoperativen Gerinnungsanalytik für die Einschätzung des Blutungsriskos in der Allgemeinchirurgie. Chirurg 68: 684–688

Vorstand und Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer (Hrsg) (2003) Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten, 3. Aufl. Köln: Deutscher Ärzte-Verlag

Vorstand und Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer (Hrsg) (2008) Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten, 4. Aufl. Köln: Deutscher Ärzte-Verlag

Pfanner G, Koscielny J, Pernerstorfer T et al. (2007) Die präoperative Blutungsanamnese. Empfehlungen der Arbeitsgruppe perioperative Gerinnung (AGPG) der Österreichischen Gesellschaft für Anästhesiologie, Reanimation und Intensivmedizin (ÖGARI). Anästhesist 56: 604–11

Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer und Paul-Ehrlich-Institut (Hrsg) (2005) Richtlinien zur Blutgruppenbestimmung und Bluttransfusion (Hämotherapie), 4. Aufl. Köln: Deutscher Ärzte-Verlag

Ritchie B, Woodman RC, Poon MC (1992) Deep Venous Thrombosis in Hemophilia-A. Am J Med 93: 699–700

Small M, Jack AS, Lowe GDO et al. (1983) Coronary-Artery Disease in Severe Hemophilia. Brit Heart J 49: 604–7

# 40 Intra- und postoperative Gerinnungsstörungen

*C. von Heymann*



## Einleitung

Intra- und postoperative Blutungskomplikationen können bei Patienten mit vorbekannten Gerinnungsstörungen und Patienten mit leerer Blutungsanamnese auftreten. Diffenzialdiagnostisch muss prinzipiell bei jeder intra- und postoperativ auftretenden Blutung zwischen einer chirurgischen Blutungsursache und einer Gerinnungsstörung unterschieden werden.

Medikamentös induzierte Thrombozytenfunktionsstörungen und die nach großen Blutverlusten auftretende Verlust- und Dilutionskoagulopathie sind die häufigsten Gerinnungsstörungen. Im Notfall orientiert sich das therapeutische Vorgehen am klinischen Bild und an wenigen laboranalytischen Basiswerten.

## 40.1 Erworbene Gerinnungsstörungen

Neben den kongenitalen Gerinnungsstörungen, die aus der Anamnese in der Regel bekannt sind, nehmen die erworbenen Störungen der Gerinnung im perioperativen Umfeld eine herausragende Stellung ein. Diese werden häufig, wenn nicht eine dezidierte Gerinnungsanamnese erfolgte, zu spät erkannt. Sobald eine chirurgische Blutung ausgeschlossen ist, sollte bei erhöhtem perioperativen Blutverlust an eine erworbene Gerinnungsstörung gedacht werden. Diese kann grundsätzlich alle Komponenten des Hämostasesystems betreffen.

Aufgrund der Vielzahl an Ursachen erworbener Gerinnungsstörungen kann im Rahmen dieses Kapitels nur auf die wichtigsten eingegangen werden. Die Symptomatik, Diagnostik und Therapie spezieller Krankheitsbilder (z. B. Lebererkrankungen) oder einer speziellen antithrombotischen Therapie, die in der perioperativen Phase eine Rolle spielen können, werden in den speziellen Kapiteln dargestellt.

### 40.1.1 Thrombozytär bedingte Gerinnungsstörungen

Kongenitale thrombozytär bedingte Gerinnungsstörungen sind sehr selten, wohingegen erworbene Thrombozytopenien und Thrombozytopathien auch in der perioperativen Phase eine häufig anzutreffende Blutungsursache darstellen (Koscielny et al. 2004).

Patienten mit thrombozytären Gerinnungsstörungen imponieren mit petechialen Einblutungen, ggf. auch Suggilationen der Haut, insbesondere an abhängigen Partien, der Schleimhäute, des Gastrointestinaltrakts sowie des zentralen Nervensystems. Lebensbedrohliche Spontanblutungen treten häufig bei Thrombozytenwerten unter 10.000–30.000/µl auf. Liegen begleitende Gerinnungsstörungen im Sinne einer Thrombozytopathie oder plasmatischer Gerinnungsstörungen vor, ist auch bereits bei deutlich höheren Thrombozytenwerten das Auftreten von Spontanblutungen möglich.

#### Erworbene Thrombozytopenien

Die erworbenen Thrombozytopenien stellen eine häufige Ursache perioperativer Blutungen dar. Die wichtigsten Ursachen erworbener Thrombozytopenien sind in der Übersicht dargestellt.

**Häufige erworbene Thrombozytopenien**
- Immunthrombozytopenie, z. B. Werlhof-Krankheit
- Splenomegalie
- toxische Knochenmarkschädigung
- Neoplasie mit Knochenmarkbeteiligung, z. B. Myelome, Leukämien, Osteomyelofibrosen

Die Therapie thrombozytopenischer Blutungen in der perioperativen Medizin muss die zugrunde liegende Ursache berücksichtigen. Für vital bedrohliche Blutungssituationen ist die Transfusion von Thrombozytenkonzentraten indiziert, die beim Vorliegen einer Immunthrombozytopenie (Bildung von Auto- oder Alloantikörpern gegen Bestandteile der Thrombozytenmembran) auch eine begleitende immunsuppressive Therapie (z. B. Kortikoidmedikation) und/oder die Gabe von Immunglobulinen erfordern kann.

Unabhängig von der auslösenden Ursache kann eine Splenomegalie zu einem erhöhten Abbau der Thrombozyten führen. Liegt begleitend eine Lebererkrankung mit herabgesetzter Faktorensynthese vor, kann dies in Abhängigkeit von der Lokalisation und dem Ausmaß des operativen Eingriffs eine ausgeprägte Blutungsneigung induzieren. Das Hauptaugenmerk des behandelnden Arztes sollte in der präoperativen Planung der Substitution von Thrombozyten und ggf. Gerinnungsfaktoren liegen, um eine intraoperative, diffuse Blutungsneigung zu vermeiden.

Eine Thrombozytopenie, die im Rahmen einer Verdünnungskoagulopathie auftritt, sollte zunächst durch eine Volumenrestriktion, ggf. Hämokonzentration bei suffizientem intravasalem Volumen, behandelt werden. In der Regel wird in der perioperativen Phase eine Anzahl

von 50.000/µl Thrombozyten als ausreichend angesehen (Leitlinien BÄK: Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer 2003). Bei perioperativ persistierender, transfusionsbedürftiger Blutungsneigung oder in speziellen operativen Fachgebieten (Neurochirurgie, Ophthalmologie) kann auch oberhalb einer Thrombozytenzahl von 50.000/µl die Substitution von Thrombozyten erforderlich sein.

### Heparininduzierte Thrombozytopenie (HIT II)

In der Therapie perioperativ auftrender Thrombozytopenien stellt die heparininduzierte Thrombozytopenie Typ II (HIT II) eine Ausnahme dar, da diese Gerinnungsstörung mit dem Auftreten von thromboembolischen Verschlüssen im venösen und arteriellen Stromgebiet (tiefe Becken- und Beinvenenthrombosen, Extremitätenischämien, Lungenarterienembolien, Myokardinfarkte, Mesenterialischämien, Hautnekrosen oder Schlaganfälle) verbunden ist (▶ Kap. 61).

### Sonstige Thrombozytopenien

Toxische Thrombozytopenien stellen in der perioperativen Phase eine sehr seltene Ursache von Blutungen dar, die durch das Absetzen der ursächlichen Noxe behandelt wird. Ausgeprägte Thrombozytopenien mit Blutungsneigung erfordern die Substitution von Thrombozytenkonzentraten. Gleiches gilt für eine Thrombozytopenie, die im Rhamen einer Neoplasie bzw. einer Chemotherapie auftritt.

Klinisch validierte Grenzwerte, die zur Indikationsstellung für Thrombozytenkonzentrate in der perioperativen Phase herangezogen werden können, stehen aus der Literatur nicht zur Verfügung. Das Ausmaß der perioperativen Blutung und eine mögliche Thrombozytendysfunktion (z. B. nach Herz-Lungen-Maschine) bestimmen den Zeitpunkt und die erforderliche Anzahl von Thrombozytenkonzentraten. Wegweisend ist das engmaschige Monitoring der Blutverluste, da das Monitoring der Thrombozytenzahl keinen Rückschluss auf eine suffiziente Thrombozytenfunktion erlaubt. Laborchemische Monitoringverfahren, die auf ihre Validität untersucht sind, existieren derzeit nicht.

### Erworbene Thrombozytopathien

Während angeborene Thrombozytopathien ausgesprochen selten sind, stellen die erworbenen Thrombozytopathien die bei weitem häufigste Ursache für thrombozytäre Blutungsneigungen dar. In der perioperativen Phase kommen v. a. den medikamentösinduzierten, den urämischen und fremdoberflächeninduzierten Thrombozytopathien eine Bedeutung zu. Thrombozytopathien, die im Rahmen myeloproliferativer Erkrankungen oder von Dysproteinämien auftreten können, werden in den speziellen Kapiteln beschrieben (▶ Kap. 30.2, 30.3 und 34.4).

In der Übersicht ist eine Auswahl von Medikamenten dargestellt, die in unterschiedlicher Ausprägung eine Thrombozytopathie verursachen können. Diese Liste stellt nur einen kleinen Ausschnitt von Medikamenten dar, die die Thrombozytenfunktion einschränken können. Für den Kliniker relevant ist die hohe Anzahl von frei verkäuflichen Medikamenten, die Acetylsalicylsäure (ASS) enthalten. Da dies den Patienten oftmals selbst nicht bekannt ist, kann hieraus eine Blutungsneigung entstehen, wenn nicht präoperativ eine sorgfältige Blutungsanamnese erhoben wurde.

Nachfolgend wird schwerpunktmäßig auf Gerinnungsstörungen eingegangen, die durch ASS, ADP-Rezeptorantagonisten und Glykoprotein-IIb-IIIa-Inhibitoren verursacht werden. Des Weiteren werden kurz die Pathophysiologie und Therapie urämischer und fremoberflächeninduzierter Thrombozytopathien dargestellt.

**Medikamente, die Thrombozytopathien induzieren können**

- Unselektive Zyklooxygenaseinhibitoren
  - Acetylsalicylsäure (ASS)
  - NSAID
- ADP-Rezeptorantagonisten
  - Ticlopidin
  - Clopidogrel
- GP-IIb-IIIa-Antagonisten
- Prostaglandin $I_2$ ($PGI_2$)
- Antibiotika
  - Penicilline
  - Cephalosporine
  - Tetrazykline
- Röntgenkontrastmittel
- Valproinsäure
- kolloidale Volumenersatzmittel
- β-Blocker

### Medikamenteninduzierte Thrombozytopathien

Aufgrund der hohen Prävalenz der Einnahme von Thrombozytenaggregationshemmern haben diese Substanzen in der perioperativen Phase, v. a. bei Notfalleingriffen, eine herausragende Bedeutung.

Ist eine präoperative Einnahme von ASS bekannt, kann eine Behandlung mit Desmopressin (DDAVP 0,3 µg/kgKG als Kurzinfusion über 30 min) versucht werden (▶ Kap. 50.1). Die Dosis sollte 60 min vor Beginn der OP begonnen werden, um während der Operation hohe Wirkspiegel zu haben. Als Monitoring zur Abschätzung des Therapieeffekts eignet sich in dieser Situation der »platelet function analyzer« (PFA-100) oder die Aggregometrie (z. B. nach

Born oder Impedanzaggregometrie, Multiplate). Ist eine präoperative Behandlung der Thrombozytenfunktionsstörung nicht möglich und kommt es zu einer intra- bzw. postoperativen Blutungsneigung, kann die oben angegebene Dosis von DDAVP auch intraoperativ verabreicht werden.

Für Antifibrinolytika (Tranexamsäure 30 mg/kgKG; Pleym et al. 2003) wurde ebenfalls eine Stabilisierung der Thrombozytenfunktion beschrieben, sodass diese bei nicht ausreichender Wirksamkeit von DDAVP eingesetzt werden können.

Im Sinne eines therapeutischen Stufenkonzepts kann bei unzureichender Blutstillung durch die oben genannten Maßnahmen als letzter Schritt die Transfusion von Thrombozytenkonzentraten notwendig werden.

Für Patienten, die mit ADP-Rezeptorantagonisten wie Clopidogrel oder GP-IIb-IIIa-Rezeptorinhibitoren (Abciximab, Eptifibatide oder Tirofiban) behandelt wurden und hiernach eine Blutungsneigung entwickelten, führt die Therapie mit DDAVP nicht zu einem Rückgang der Blutverluste. Mit Clopidogrel behandelte Patienten zeigten eine signifikante Reduktion der Drainageverluste und des Transfusionsbedarfs durch die hoch dosierte prophylaktische Gabe von Aprotinin (»Full Hammersmith Protocol«: 2 Mio. KIU Aprotinin von Hautschnitt bis Beginn der Herz-Lungen-Maschine (HLM), 0,5 Mio. KIU/h bis zum OP-Ende und 2 Mio. KIU in das Priming der HLM; van der Linden et al. 2005).

Aprotinin ist aktuell nicht verfügbar. Führt die Therapie mit einem Antifibrinolytikum (alternativ kann die Gabe von Tranexamsäure, z. B. 0,5–1 g als Kurzinfusion über 30 min mit anschließender Dauerinfusion versucht werden) nicht zu einer Reduktion der Blutverluste, so ist, wie auch bei Therapie mit GP-IIb-IIIa-Rezeptorinhibitoren, die Transfusion von Thrombozytenkonzentraten indiziert.

Von den in der Übersicht dargestellten Medikamenten, die eine variable Hemmung der Thrombozytenfunktion induzieren, nimmt die Valproinsäure eine Sonderrolle ein. Für Valproinsäure wurden wiederholt komplexe Gerinnungsstörungen mit Thrombopathie, Thrombozytopenie, Faktor-XIII-Mangel und einem erworbenen Von-Willebrand-Syndrom Typ 1 beschrieben, welche klinisch mit einer erheblichen Blutungsneigung imponieren können (Teich et al. 2004).



#### Urämische Thrombozytopathie

Die urämische Thrombozytopathie ist gekennzeichnet durch eine verminderte Thrombozytenaggregation, die verursacht ist durch einen funktionalen Defekt am Von-Willebrand-Faktor, der entweder mit einer verminderten Affinität zum GP-Ib-IX-Rezeptor oder einer verminderten GP-Rezeptorexpression einhergeht (Hedges et al. 2007). Die verminderte Bindung von vWF and GP Ib-IX wird als ursächlich für eine reduzierte Synthese von Thromboxan $A_2$ (TX $A_2$) und ADP in Thrombozyten angesehen.

Weitere pathophysiologische Faktoren, die für die verlängerte Blutungszeit niereninsuffizienter Patienten eine Rolle spielen können, sind erhöhte $PGI_2$-Spiegel (Kyrle et al. 1988) und eine zytokinvermittelte, gesteigerte NO-Synthese (Noris et al. 1993) urämischer Patienten. Die therapeutischen Optionen bei Verdacht auf eine urämieinduzierte Blutung ist die Gabe von DDAVP (Dosierung: siehe oben) oder die Substitution von Thrombozytenkonzentraten. Vor elektiven Eingriffen wird die Gabe von Erythropoetin zur Anhebung des Hämatokrits auf Werte >30% empfohlen.

#### Fremdoberflächen

Der Fremdoberflächenkontakt des Blutes bei extrakorporaler Zirkulation (z. B. Herz-Lungen-Maschine, HLM) verursacht neben einer plasmatischen Gerinnungsstörung durch Verlust und Verbrauch von Gerinnungsfaktoren eine Thrombozytopenie und Thrombozytopathie, welche auf einer verminderten Expression membranständiger Adhäsionsmoleküle vom Glykoproteinrezeptortyp beruht (Chung et al. 2005). Bei transfusionspflichtigen Blutungen nach Herz-Lungen-Maschine kann daher auch bei nur gering erniedrigten Thrombozytenzahlen die Gabe von Thrombozytenkonzentraten indiziert sein.

### 40.1.2 Plasmatische Gerinnungsstörungen

#### Von-Willebrand-Syndrom in der perioperativen Phase

In Mitteleuropa leidet 1% der Bevölkerung am Von-Willebrand-Syndrom (vWS). Aufgrund der hohen Prävalenz dieser mit einer Blutungsneigung einhergehenden Gerinnungsstörung und der Tatsache, dass je nach Subtyp des Syndroms die Gerinnungsstörung wenig ausgeprägt und damit den Patienten nicht immer bekannt ist, wird an dieser Stelle kurz auf die Therapie in der perioperativen Phase eingegangen.

Der Von-Willebrand-Faktor (vWF) ist ein wichtiges Adhäsionsmolekül zur Bindung von Thrombozyten an subendotheliale Strukturen nach Gefäßwandläsionen (Castaman et al. 2003). Zudem ist er das Trägermolekül für den Faktor VIII und schützt diesen vor vorzeitigem Abbau, sodass die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (APTT) bei Von-Willebrand-Patienten verlängert sein kann. Die Schwere und das klinische Erscheinungsbild sind abhängig vom vorliegenden Subtyp (Castaman et al. 2003). Milde Formen fallen meist nur durch Nachblutungen nach Operationen, insbesondere nach Zahnextraktionen und Tonsillektomien auf. Die schweren Formen zeigen zusätzlich Gelenkeinblutungen sowie lebensbedrohliche Blutungen

unter Operationen und bei der Menstruation. Diese Verlaufsform ist sehr selten und normalerweise bereits hämostaseologisch diagnostiziert und behandelt.

> **Mittel der ersten Wahl zur Therapie des Von-Willebrand-Syndroms mit milder Verlaufsform, das im Rahmen eines operativen Eingriffs erstmals symptomatisch wird, ist die Gabe von DDAVP. Bei wiederauftretender oder anhaltender Blutungsneigung unter DDAVP-Substitution sollte auf ein vWF-haltiges FVIII-Konzentrat gewechselt werden.**

### Verlust- und Dilutionskoagulopathie

Ausgeprägte posttraumatische oder perioperative Blutungen führen häufig zu dem Bild einer kombinierten Verlust- und Dilutionskoagulopathie, die sich mit klinischen Zeichen einer kombinierten plasmatischen und thrombozytären Gerinnungsstörung im Sinne einer diffusen Blutungsneigung aus Punktionsstellen und Wundflächen sowie Schleimhauteinblutungen manifestiert (Fries 2006).

Mit dem Blutverlust gehen plasmatische und korpuskuläre Blutbestandteile der Hämostase verloren. Regelhaft, und dies trifft v. a. auf die präklinische Behandlung traumatisierter Patienten zu, werden zur Aufrechterhaltung des Blutvolumens zunächst kristalloide und kolloidale Lösungen eingesetzt, die zusätzlich zum Verlust die pathophysiologische Entität der Dilutionskoagulopathie mit Verdünnung von Gerinnungsfaktoren (hier v. a. Fibrinogen, aber auch FV und FIX; Murray 1995, 1988) sowie Thrombozyten und Erythrozyten einleiten. Bis in der klinischen Routine Blutprodukte bereitgestellt sind, ist häufig eine kombinierte Dilutions- und Verlustkoagulopathie manifestiert.

Eine klinisch relevante Blutungsneigung wurde nach 50%-igem Austausch des totalen Blutvolumens mit einem Abfall der Fibrinogenkonzentration unter 1 g/l beschrieben (McLoughlin et al. 1996). Nach einem Blutverlust vom 1,4-fachen des Blutvolumens, welcher mit einer diffusen Blutungsneigung einherging, wurde eine signifikante Reduktion von Fibrinogen, FV und FIX gemessen (Murray et al. 1988). Als kritische Grenze für eine erhöhte Blutungsneigung wird für das Fibrinogen ein Spiegel unter 1–1,5 g/l angesehen (Leitlinien BÄK: Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer 2003). In der Geburtshilfe ist die kritische Fibrinogenkonzentration höher anzulegen, möglicherweise aufgrund der in der Schwangerschaft physiologisch erhöhten Fibrinogenkonzentration, da bereits bei Konzentrationen unter 2 g/l ein erhöhtes Risiko für eine postpartale Blutung beschrieben wurde (Charbit et al. 2007).

Die Ausprägung der Koagulopathie wird durch die Auswahl des kolloidalen Volumenersatzmittels beeinflusst. Gelatinepräparate und Hydroxyethylstärke (HES) führten in einem In-vitro-Versuch bei einer 60%-igen Dilution zu einer signifikanten Verminderung der maximalen Gerinnselfestigkeit (MCF, engl. »maximum clot firmness«) und Verzögerung der Gerinnungszeit (»clotting time«, CT) und der Gerinnselbildungszeit (»clot formation time«, CFT) in der Thrombelastographie, wobei diese Effekte bei Dilution mit HES 130/0,4 ausgeprägter waren als mit 4% Gelatinelösung oder Ringer-Laktat (Fries 2006). Die Dilution mit Ringer-Laktat (RL) führte ebenfalls zu einer signifikanten Dilutionskoagulopathie im Thrombelastogramm, war jedoch geringer ausgeprägt als bei HES und Gelatine. Die Substitution von Fibrinogenkonzentrat korrigierte in diesem In-vitro-Versuch die RL- und Gelatine-induzierte Dilutionskoagulopathie annähernd, jedoch nur partiell die HES-verursachte Dilutionskoagulopathie.

Neben Gerinnungsfaktoren und Thrombozyten wird auch Erythrozyten eine Rolle im Rahmen des Hämostaseprozesses zugeschrieben. So wurde bei gesunden Blutspendern nach Hämodilution eine signifikant verlängerte Blutungszeit gemessen, die durch Retransfusion des Erythrozytenkonzentrates wieder normalisiert werden konnte (Valeri et al. 2001). Die pathophysiologische Hypothese ist, dass es mit abnehmender Erythrozytenzahl bei konstantem Blutvolumen zu einem verminderten Thrombozyten-Endothel-Kontakt kommt, der durch Gabe von Erythrozytenkonzentraten im Sinne einer »Marginalisation« von Thrombozyten wieder korrigiert werden kann. Bei einem Hämatokrit unter 30% muss mit einer klinisch relevanten Beeinflussung der Hämostase gerechnet werden (Lier et al. 2007).

#### Diagnostik

Die Entwicklung einer Dilutions- und Verlustkoagulopthie stellt einen dynamischen Prozess dar, der rasch diagnostiziert und therapiert werden sollte, um einer Blutungsneigung vorzubeugen, optimale Operationsbedingungen zu gewährleisten und unnötige Gaben von Blutprodukten zu vermeiden.

Die Bestimmung der Globalparameter der Gerinnung ist ein Prozess, der in den meisten Zentrallaboren methodenabhängig mindestens 30 min dauert, sodass ein Abwarten dieser Parameter die adäquate und kosteneffiziente Therapie verzögern kann. Neben dem klinischen Symptom einer diffusen Blutungsneigung, welches immer noch das valideste Symptom einer Gerinnungsstörung darstellt, hat in den letzten Jahren die Thrombelastographie (TEG) als bettseitiges Monitoring perioperativer Gerinnungsstörungen eine Renaissance erfahren, da innerhalb von 10–15 min die Gerinnungszeit (CT), die Gerinnselbildungszeit (CFT) und die maximale Gerinnselfestigkeit (MCF) bestimmt werden können, die bei bestehender diffuser Blutungsnei-

gung differenzialtherapeutisch genutzt werden können. Im Rahmen einer Dilutionskoagulopathie findet sich häufig eine verminderte maximale Gerinnselfestigkeit sowie eine verlängerte Gerinnungszeit.

Die Nachteile der Methode bestehen in zusätzlich erforderlichen Personalressourcen, der Notwendigkeit einer ausreichenden Erfahrung in der Interpretation der Ergebnisse und der Tatsache, dass aus den ermittelten Ergebnissen nicht auf die Substitutionsdosis an Gerinnungsfaktoren geschlossen werden kann. Insofern liefert auch die TEG Laborparameter, die die klinische Einschätzung des Gerinnungsprozesses unterstützen können, aber nicht losgelöst von der Klinik des Patienten interpretiert werden sollten.

### Therapie

Ein therapeutischer Algorithmus sollte in enger Absprache mit dem Chirurgen entwickelt werden (siehe Übersicht).

**Therapeutischer Algorithmus bei Verlust- und Dilutionskoagulopathie**

- Kompression des Wundsitus (»packing«), um Zeit für die Optimierung des Hämostasepotenzials (und der hämodynamischen Situation) zu gewinnen
- Anheben des Hämatokrits (>30%)
- Anheben des Fibrinogenspiegels
  - Fibrinogenkonzentrat wegen der schnelleren Verfügbarkeit, Dosis (g): [$\text{Fibrinogen}_{\text{Soll}}$ – $\text{Fibrinogen}_{\text{Ist}}$ (g/l)] × Plasmavolumen (l)
  - ansonsten Frischplasma (FFP): 1 ml/kgKG erhöht das Faktorenpotenzial um ca. 1%
- Anheben der Vitamin-K-abhängigen Faktoren durch Prothrombinkomplexkonzentrat (bei verlängerter Gerinnungszeit in dem extrinsisch (exTEM) aktivierten Thrombelastographie
- PPSB-Dosis (IE): ($\text{Quick}_{\text{Soll}}$ – $\text{Quick}_{\text{Ist}}$) × kgKG (1 IE/kgKG erhöht den Quick-Wert um 0,8–1%)
- Substitution von Thrombozyten bei Thrombozytenzahlen <100.000/µl
- Aufrechterhaltung des substituierten Gerinnungsfaktorenpools durch die Gabe von FFP

Die Gabe von FFP hat neben der Substitution von Gerinnungsfaktoren und -inhibitoren in einem physiologischen Verhältnis den Vorteil des Volumenersatzes, welcher zur Stabilisierung des intravasalen Volumens und der Hämodynamik unerlässlich ist.

**Tab. 40.1.** Vermutete Grenzwerte für das Auftreten einer relevanten Koagulopathie

| Parameter | Grenzwert |
|---|---|
| Kerntemperatur | <33°C |
| pH-Wert | <7,2 |
| Konzentration an ionisiertem Kalzium | <0,56 mmol/l |
| Hämatokrit | <30% |

## 40.1.3 Kofaktoren der Hämostase

Azidose und Hypothermie haben als Kofaktoren einen direkten Einfluss auf die Aktivität von Serinproteasen und Thrombozyten (Wolberg et al. 2004; Meng et al. 2003) und können so mit einer signifikanten Gerinnungsstörung einhergehen bzw. diese verstärken (Tab. 40.1; Übersicht bei Lier et al. 2007). Kalzium ist bei annähernd jedem Schritt der Aktivierung von Gerinnungsfaktoren notwendig. In einer thrombelastographischen Untersuchung wurde eine verlängerte Gerinnungszeit (»r-time«) bei einer Konzentration des ionisierten Kalziums <0,56 mmol/l gezeigt (James u. Roche 2004). Zudem ist zu beachten, dass während Massivtransfusion mit Frischplasma relevante Mengen an Citrat aus der Stabilisatorlösung (Leitlinien BÄK: Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer 2003) zugeführt werden, die ionisiertes Kalzium binden. Diese Parameter sollten bei diffuser Blutungsneigung kontrolliert und ggf. korrigiert werden.

## 40.1.4 Algorithmus zur Therapie unerwarteter perioperativer Blutungen

Der Algorithmus in Abb. 40.1 stellt beispielhaft den diagnostischen und therapeutischen Handlungsablauf bei einer unerwarteten perioperativen Blutung dar. In diesen können nach den klinikinternen Gegebenheiten weitere diagnostische bzw. therapeutische Schritte integriert werden.

Abb. 40.2 zeigt einen therapeutischen Ansatz bei vermuteter antikoagulanzieninduzierter Blutung. Dieser ist auch bei intensivmedizinischen und Notfallpatienten ohne operativ behandelte Grunderkrankung nutzbar.

Der Autor weist darauf hin, dass es bei Algorithmen zur perioperativen Gerinnungstherapie derzeit noch an Evidenz aus prospektiven randomisierten Studien mangelt. Dies gilt insbesondere für die genannten Zielbereiche der Gerinnungsoptimierung. Diese sind als Richtwerte anzusehen.

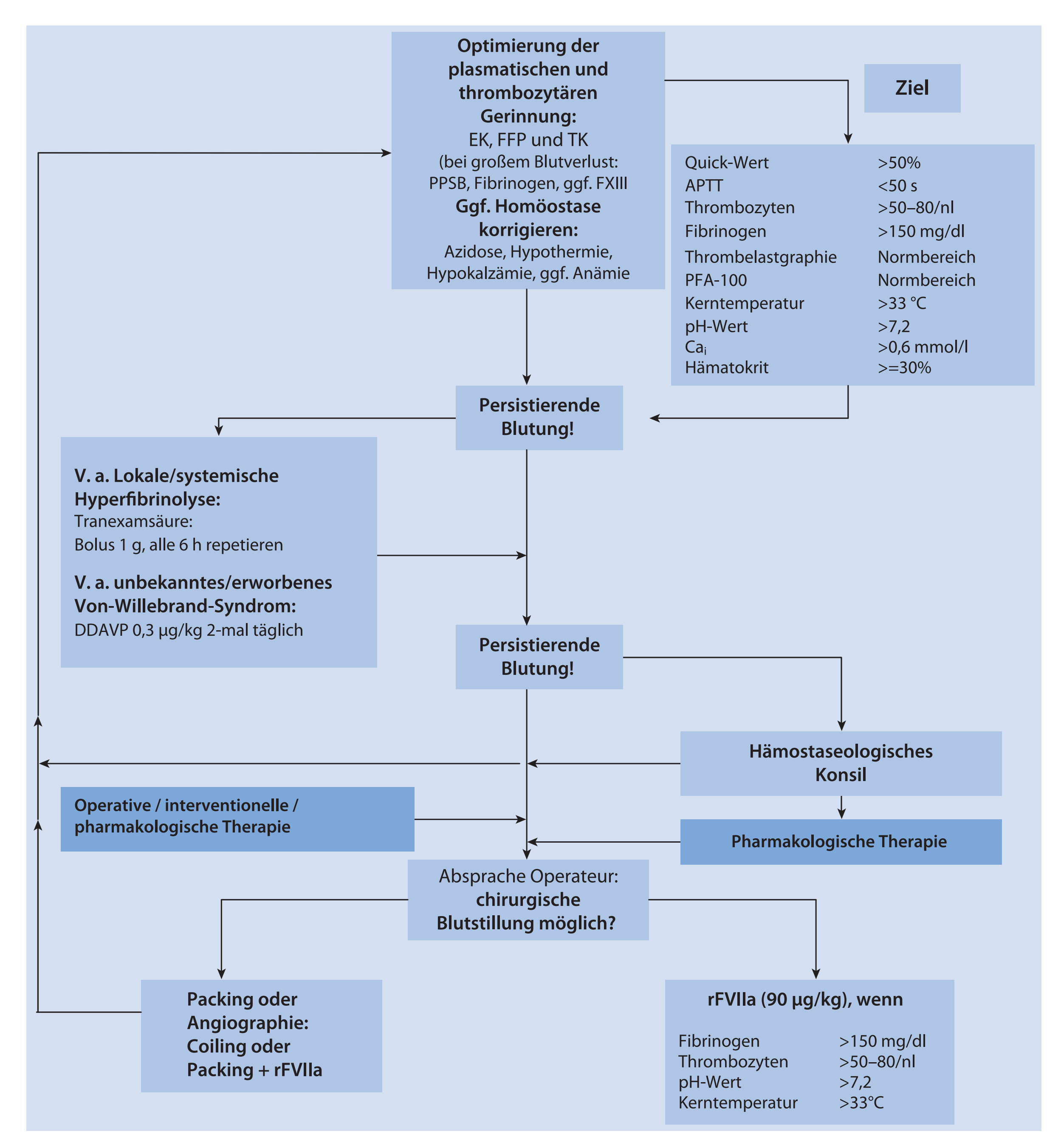



**Abb. 40.1.** Algorithmus zum Vorgehen bei unerwarteter perioperativer Blutung. *EK* Erythrozytenkonzentrat; *FFP* Gefrorenes Frischplasma; *TK* Thrombozytenkonzentrat; *PPSB* Prothrombinkomplex; *$Ca_i$* ionisiertes Kalzium; *Hkt* Hämatokrit; *PFA-100* »platelet function analyzer-100«

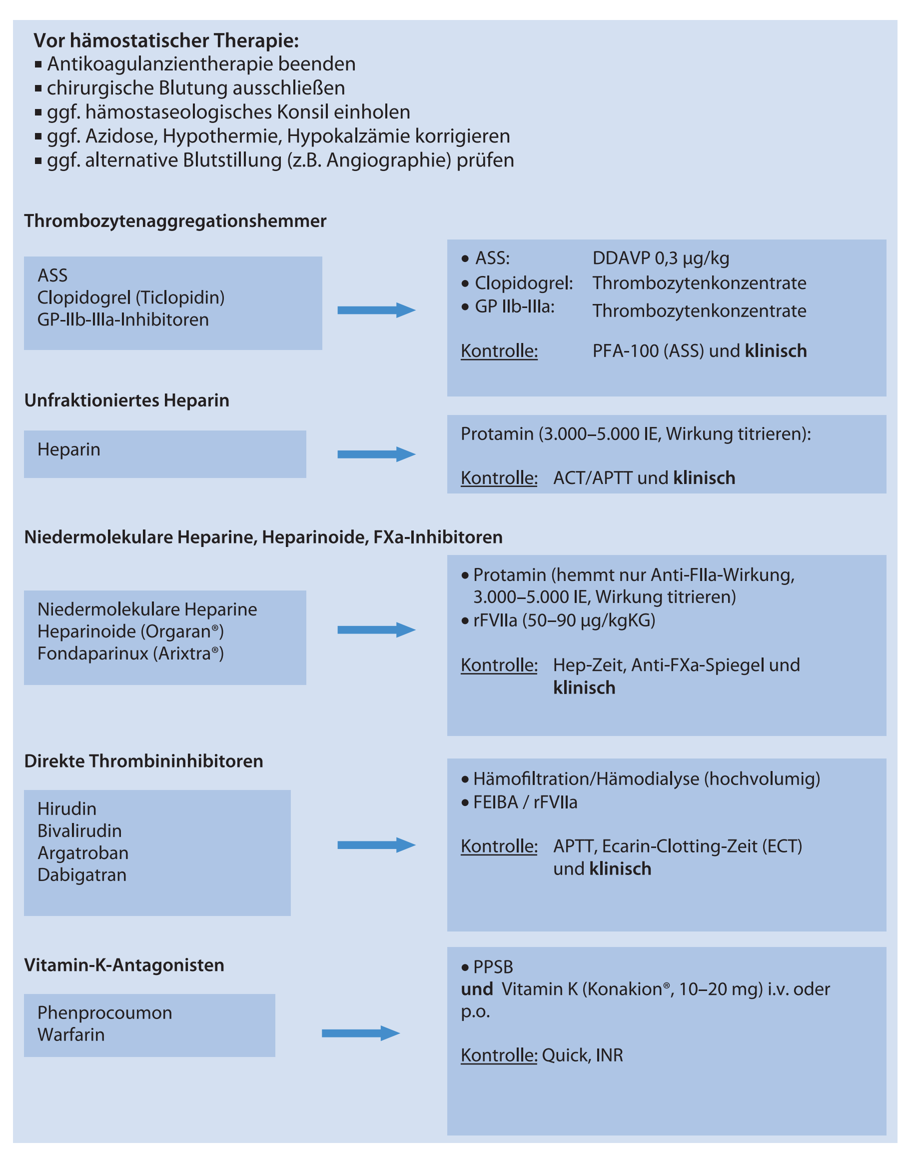



**Abb. 40.2.** Vorgehen bei vermuteten antikoagulanzieninduzierten Blutungen. *ACT* »activated clotting time« ; *FEIBA* »factor eight inhibitor bypassing activity« ; *FFP* gefrorenes Frischplasma; *NMH* niedermolekulares Heparin; *PFA-100* »platelet function analyzer-100«; *PPSB* Prothrombinkomplex



## Literatur


Castaman G, Federici AB, Rodeghiero F, Mannucci PM (2003) Von Willebrand's disease in the year 2003: towards the complete identification of gene defects for correct diagnosis and treatment. Haematologica 88(1): 94–108

Charbit B, Mandelbrot L, Samain E et al. (2007) The decrease of fibrinogen is an early predictor of the severity of postpartum hemorrhage. J Thromb Haemost 5(2): 266–73

Chung A, Wildhirt SM, Wang S, Koshal A, Radomski MW (2005) Combined administration of nitric oxide gas and iloprost during cardiopulmonary bypass reduces platelet dysfunction: a pilot clinical study. J Thorac Cardiovasc Surg 129(4): 782–90

Fries D, Innerhofer P, Reif C, Streif W, Klingler A, Schobersberger W, Velik-Salchner C, Friesenecker B (2006) The effect of fibrinogen substitution on reversal of dilutional coagulopathy: an in vitro model. Anesth Analg 102(2): 347–51

Hedges SJ, DeHoney SB, Hooper JS, Amanzadeh J, Busti J (2007). Evidence-based treatment recommendations for uremic bleeding. Nat Clin Pract Nephrol 3(3): 138–53

James MF, Roche AM (2004) Dose-response relationship between plasma ionized calcium concentration and thrombelastography. J Cardiothorac Vasc Anesth 18(5): 581–6

Koscielny J, von Tempelhoff GF, Ziemer S, Radtke H, Schmutzler M, Sinha P, Salama A, Kiesewetter H, Latza R (2004) A practical concept for preoperative management of patients with impaired primary hemostasis. Clin Appl Thromb Hemost 10(2): 155–66

Kyrle PA, Stockenhuber F, Brenner B, Gossinger H, Korninger C, Pabinger I, Sunder-Plassmann G, Balcke P, Lechner K (1988) Evidence for an

increased generation of prostacyclin in the microvasculature and an impairment of the platelet alpha-granule release in chronic renal failure. Thromb Haemost 60(2): 205–8

Lier H, Kampe S, Schroder S (2007) Prerequisites of a functional haemostasis: What must be considered at the scene of an accident, in the emergency room and during an operation? Anaesthesist 56(3): 239–51

McLoughlin TM, Fontana J.L, Alving B, Mongan PD, Bunger R (1996) Profound normovolemic hemodilution: hemostatic effects in patients and in a porcine model. Anesth Analg 83(3): 459–65

Meng ZH, Wolberg AS, Monroe Dm 3rd, Hoffman M (2003) The effect of temperature and pH on the activity of factor VIIa: implications for the efficacy of high-dose factor VIIa in hypothermic and acidotic patients. J Trauma 55(5): 886–91

Murray DJ, Pennell BJ, Weinstein SL, Olson JD (1995) Packed red cells in acute blood loss: dilutional coagulopathy as a cause of surgical bleeding. Anesth Analg 80(2): 336–42

Murray DJ, Olson J, Strauss R, Tinker JH (1988) Coagulation changes during packed red cell replacement of major blood loss. Anesthesiology 69(6): 839–45

Noris M, Benigni A, Boccardo P, Aiello S, Gaspari F, Todeschini M, Figliuzzi M, Remuzzi G (1993) Enhanced nitric oxide synthesis in uremia: implications for platelet dysfunction and dialysis hypotension. Kidney Int 44(2): 445–50

Pleym H, Stenseth R, Wahba A, Bjella L, Karevold A, Dale O (2003) Single-dose tranexamic acid reduces postoperative bleeding after coronary surgery in patients treated with aspirin until surgery. Anesth Analg 96(4): 923–8

Teich M, Longin E, Dempfle C E, König S (2004) Factor XIII deficiency associated with valproate treatment. Epilepsia 45(2): 187–9

Valeri CR, Cassidy G, Pivacek LE, Ragno G, Lieberthal W, Crowley JP, Khuri SF, Loscalzo J (2001) Anemia-induced increase in the bleeding time: implications for treatment of nonsurgical blood loss. Transfusion 41(8): 977–83

van der Linden J, Lindvall G, Sartipy U (2005) Aprotinin decreases postoperative bleeding and number of transfusions in patients on clopidogrel undergoing coronary artery bypass graft surgery: a double-blind, placebo-controlled, randomized clinical trial. Circulation 112(9 Suppl): I276–80

Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer (Hrsg) (2003) Leitlinien der Bundesärztekammer zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten. Köln: Deutscher Ärzte-Verlag

Wolberg AS, Meng ZH, Monroe DM 3rd, Hoffman M (2004) A systematic evaluation of the effect of temperature on coagulation enzyme activity and platelet function. J Trauma 56(6): 1221–8

# 42 Antikoagulation von kritisch kranken Patienten

*B. Pötzsch, K. Madlener*

## Einleitung

Antikoagulanzien werden in der Intensivmedizin zur Thromboseprophylaxe, zur Thrombosetherapie und zur Antikoagulation von extrakorporalen Zirkulationssystemen eingesetzt. Bei intensivmedizinisch behandelten Patienten ist das Blutungsrisiko meist hoch, sodass die therapeutische Breite für eine Therapie mit Antikoagulanzien schmal ist.

Ausgelöst wird die erhöhte Blutungsneigung durch die schwerwiegende Grunderkrankung mit häufig renaler und hepatischer Funktionseinschränkung sowie durch die meist erforderlichen traumatisierenden Therapiemaßnahmen. Daher ist das unfraktionierte Heparin Antikoagulanz der ersten Wahl zur therapeutischen Antikoagulation in der Intensivmedizin, weil es den Vorteil einer kurzen Halbwertszeit mit der Verfügbarkeit eines Antidots kombiniert.

Eine Alternative zum unfraktionierten Heparin ist der direkte Thrombininhibitor Argatroban, der ebenfalls eine kurze Halbwertszeit aufweist und hepatisch eliminiert wird. Auch in der Thromboseprophylaxe wird die Wahl des Antikoagulans vom Blutungsrisiko bestimmt. Unfraktioniertes Heparin sollte bei Patienten mit hohem Blutungsrisiko eingesetzt werden, wohingegen ein niedermolekulares oder synthetisches Heparin aufgrund der besseren Bioverfügbarkeit und der geringeren Nebenwirkungsrate bei den übrigen Patienten bevorzugt werden sollte.

Die Zitratantikoagulation ist beim Einsatz von Nierenersatzverfahren eine Alternative zum unfraktionierten Heparin, das ansonsten in der Antikoagulation von extrakorporalen Zirkulationssystemen das Mittel der Wahl darstellt.

## 42.1 Thromboseprophylaxe

Untersuchungen zur Prävalenz und Inzidenz der tiefen Beinvenenthrombose und der Lungenembolie zeigen, dass etwa 2–3% der Intensivpatienten bereits mit einer tiefen Beinvenenthrombose oder Lungenembolie aufgenommen werden (Cook 2004; Patel 2005). Diese für ein gemischtes chirurgisches und internistisches Patientenkollektiv erhobenen Daten sind wahrscheinlich bei internistischen Intensivpatienten etwas höher und bei chirurgischen Intensivpatienten etwas niedriger anzusetzen. Das Risiko, während der Intensivbehandlung eine venöse Thrombose zu entwickeln, wird abhängig von den Patientenkollektiven mit 10–40% eingestuft (Rocha u. Tapson 2003; Cook 2004).

Verglichen mit nicht intensivmedizinisch behandelten Patienten kommt es durch das Auftreten einer venösen Thrombose bei Intensivpatienten zu einer überproportionalen Steigerung der Mortalität (Patel 2005). Aufgrund dieser Zahlen können Intensivpatienten bezogen auf das Thromboserisiko als Hochrisikopatienten eingestuft werden, sodass grundsätzlich die Durchführung einer medikamentösen Thromboseprophylaxe gerechtfertigt ist.

Dem erhöhten Thromboserisiko steht ein möglicherweise erhöhtes Blutungsrisiko durch vorausgegangene operative Eingriffe und durch regelmäßig notwendig werdende diagnostische Eingriffe gegenüber. Hinzu kommt, dass bei einem hohen Prozentsatz von Intensivpatienten Nierenfunktionsstörungen vorliegen, die zu einer Akkumulation von renal eliminierten Antikoagulanzien wie Heparinen führen. Auch finden sich gehäuft Gerinnungsstörungen, ausgelöst durch Leberfunktionsstörungen und Knochenmarkinsuffizienz. Diese Faktoren sollten bei der Wahl der medikamentösen Thromboseprophylaxe berücksichtigt werden.

Niedermolekulare Heparine und das synthetische Heparin Fondaparinux sind grundsätzlich bei intensivmedizinisch behandelten Patienten zur Thromboseprophylaxe geeignet (Lentine et al. 2005). Bei eingeschränkter Nierenfunktion muss ihre Dosierung jedoch angepasst und gegebenenfalls durch die Bestimmung der Anti-FXa-Einheiten adjustiert werden (Kani et al. 2006).

Eine Alternative zur subkutanen Gabe von niedermolekularem Heparin bietet die niedrigdosierte kontinuierliche intravenöse Gabe von unfraktioniertem Heparin. Auch bei Patienten mit einer ausgeprägten Ödemneigung oder schlechter peripherer Durchblutung kann es nach subkutaner Injektion zunächst nicht zu einer ausreichenden Resorption des niedermolekularen Heparins und durch verspätete Mobilisation zu Überdosierungen kommen (Crowther u. Lim 2006; Kani et al. 2006). Aus diesem Grund ist bei diesen Patienten die intravenöse Gabe eine Alternative. Ein Algorithmus zur Auswahl der am Besten geeigneten Thromboseprophylaxe ist in ◘ Abb. 42.1 dargestellt.

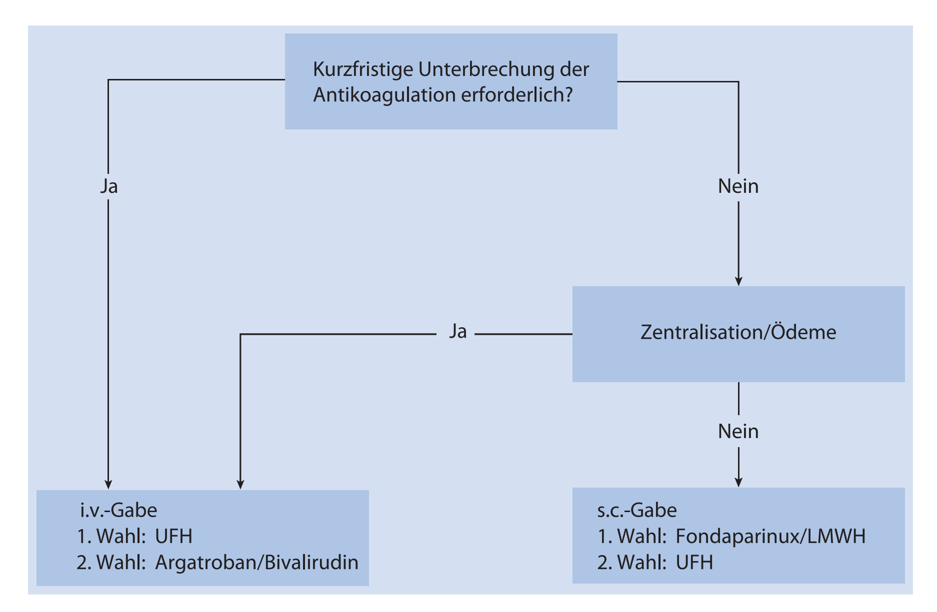



**Abb. 42.1.** Wahl des Antikoagulans zur Thromboseprophylaxe bei intensivpflichtigen Patienten. *UFH* unfraktioniertes Heparin; *LMWH* niedermolekulares Heparin

**Cave**

Wegen des unvertretbar hohen Blutungsrisikos ist eine medikamentöse Thromboseprophylaxe bei thrombozytopenischen Patienten mit Werten <20.000/µl und Patienten mit einer plasmatischen Gerinnungsstörung (TPZ <40%, APTT >2-fach verlängert) kontraindiziert. Das Gleiche gilt für Patienten mit akuten Hb-relevanten Blutungen.

Bei diesen Patienten sollten ausschließlich physikalische Maßnahmen zur Thromboseprophylaxe eingesetzt werden auch wenn deren Effektivität bei intensivmedizinisch behandelten Patienten kritisch diskutiert wird (Limpus et al. 2006). Im Fall von Patienten mit Thrombozytenwerten zwischen 20.000/µl und 50.000/µl muss im Einzelfall das Risiko gegenüber dem Vorteil einer medikamentösen Thromboseprophylaxe abgewogen werden.

Bei Patienten mit bekannter aber zurzeit nicht aktiver heparininduzierter Thrombozytopenie sind Fondaparinux, Danaparoid oder Hirudine Alternativpräparate in der subkutanen Anwendung. Eine intravenöse Thromboseprophylaxe ist mit Argatroban oder den 3 oben erwähnten Präparaten möglich (▶ Kap. 42.4).

## 42.2 Thrombosetherapie

Hauptindikationen für eine therapeutische Antikoagulation des Intensivpatienten sind akute Thrombosen, Lungenembolien und ein mechanischer Herzklappenersatz. Während die Wahl des Antikoagulans durch patientenspezifische Faktoren beeinflusst wird, ist die benötigte Antikoagulationsstärke von der Indikationsstellung und von patientenspezifischen Faktoren abhängig.

Mittel der ersten Wahl zur Behandlung von venösen Thrombosen und Lungenembolien bei intensivpflichtigen Patienten ist unfraktioniertes Heparin. Vorteile sind die einfache Therapieüberwachung, die Möglichkeiten der kurzfristigen Dosierungsanpassung und der Antagonisierung. In Abhängigkeit vom Blutungsrisiko wird eine 2- bis 2,5-fache Verlängerung des mittleren APTT-Referenzbereichs angestrebt. Grundsätzlich ist auch eine Behandlung mit niedermolekularen Heparinen und dem synthetischen Heparin Fondaparinux möglich. Diese Therapieoption sollte jedoch nur gewählt werden, wenn kein zusätzlich erhöhtes Blutungsrisiko besteht.

In der Therapie von arteriellen Thrombosen steht die thrombozytenfunktionshemmende Therapie im Vordergrund. Eine antikoagulatorische Behandlung erfolgt meist nur zur Thromboseprophylaxe. Ausnahmen sind thromboembolische Komplikationen kardialer Genese. Nach einer Thrombektomie oder nach einer medikamentösen Thrombolyse kann eine antikoagulatorische Behandlung in halbtherapeutischer Dosierung zur Sekundärprävention durchgeführt werden. Für das unfraktionierte Heparin bedeutet dies einen therapeutischen Bereich, der durch eine 1,5- bis 2-fache Verlängerung des mittleren APTT-Referenzwertes definiert ist. Auch in dieser Indikation sind niedermolekulare Heparine in halbtherapeutischer Dosierung einsetzbar.

Bei Patienten mit mechanischem Herzklappenersatz besteht grundsätzlich eine Indikation zur therapeutischen

Antikoagulation. Modifikationen im Antikoagulationsregime sind abhängig von der Herzklappenposition. Nach Aortenklappenersatz ist das Thromboserisiko wegen der hohen Flussgeschwindigkeiten eher als niedrig einzustufen, sodass hier die Antikoagulationsstärke während der Intensivbehandlung an das Blutungsrisiko angepasst werden kann. Bei akuten Blutungen kann die Antikoagulation bis zum Sistieren der Blutung ausgesetzt und bei hohem Blutungsrisiko kurzfristig in prophylaktischer Dosierung durchgeführt werden. Wegen des sehr hohen Thromboserisikos sollte bei Patienten mit mechanischem Mitralklappenersatz die therapeutische Antikoagulation nur bei akuten Blutungen reduziert oder unterbrochen werden.

Während einer intensivmedizinischen Behandlung von Patienten, die mit Thrombozytenfunktionshemmern behandelt werden, kann es erforderlich sein, die thrombozytenfunktionshemmende Therapie zu unterbrechen. In dieser Situation stellt die therapeutische Antikoagulation mit einem unfraktionierten Heparin eine gut steuerbare kurzfristige Alternative dar, die in ihrer Wirksamkeit der thrombozytenfunktionshemmenden Therapie unterlegen ist.

Wird bei Patienten, die aktuell oral antikoaguliert werden, eine intensivmedizinische Behandlung erforderlich, sollte die orale Antikoagulation unterbrochen werden. Nach Überprüfung der Indikation, sollte diese mit einem parenteralen Antikoagulans fortgesetzt werden. Wobei die Wahl des Antikoagulans auch hier von dem Blutungsrisiko bestimmt wird.

## 42.3 Antikoagulationsmanagement bei extrakorporalen Behandlungsverfahren

Durch den Kontakt des Blutes mit körperfremdem Material und durch unphysiologische Strömungsbedingungen kommt es bei Einsatz von extrakorporalen Zirkulationssystemen zu einer Aktivierung des Hämostasesystems. Daraus können thrombotische Verschlüsse des extrakorporalen Systems und thromboembolische Komplikationen beim Patienten resultieren. Um dies zu vermeiden, wird eine antikoagulatorische Behandlung durchgeführt.

**! Das etablierte Antikoagulans in dieser Indikation ist das unfraktionierte Heparin aufgrund der Möglichkeit der kurzfristigen Antagonisation und der einfachen Überwachung mit der »activated clotting time« (ACT).**

Die ACT ist eine Vollblutmethode, mit der Heparinkonzentrationen, wie sie zur Antikoagulation von extrakorporalen Zirkulationssystemen eingesetzt werden, exakt gemessen werden können. In ◻ Tab. 42.1 sind ACT-Zielwertbereiche für den Einsatz von extrakorporalen Zirkulationsverfahren zusammengefasst. Hierbei muss berücksichtigt werden, dass die Heparinempfindlichkeit der verfügbaren ACT-Verfahren nicht abgestimmt ist. Deswegen sind die aufgeführten Werte Näherungswerte, die verfahrensabhängig überprüft werden müssen.

**◻ Tab. 42.1.** Mögliche ACT-Zielwertbereiche* bei verschiedenen extrakorporalen Zirkulationssystemen

| Verfahren | ACT-Zielbereich (s) |
|---|---|
| Hämofiltration | 140–180 |
| IABP | 160–180 |
| ECMO | 180–200 |
| HLM | >400 |
| HLM (heparinbeschichtete Systeme) | >250 |
| Kunstherz | 180–200 |

*Näherungswerte, die »methoden- und gerätespezifische Abweichungen aufweisen können. *IABP* intraaortale Ballonpumpe; *ECMO* »extracorporal membrane oxygenation"; *HLM* Herz-Lungen-Maschine

Die Zitratantikoagulation ist eine Heparinalternative, die in der Antikoagulation von Hämofiltrationsverfahren erfolgreich eingesetzt wird und im Vergleich mit Heparin mit einem niedrigeren Blutungsrisiko verbunden ist (Betjes et al. 2007). Eine mögliche Nebenwirkung der Zitratantikoagulation sind Hypokalzämien. Deswegen muss der mögliche Vorteil eines geringeren Blutungsrisikos gegenüber der Gefahr einer metabolischen Entgleisung vor Einsatz der Zitratantikoagulation abgewogen werden.

## 42.4 Heparininduzierte Thrombozytopenie

Bei Patienten mit einer akuten oder chronischen heparininduzierten Thrombozytopenie (HIT) ist die Verwendung von unfraktioniertem oder niedermolekularem Heparin aufgrund des hohen Thromboserisikos kontraindiziert (► Kap. 31.1.3).

Bei intensivmedizinisch behandelten Patienten mit einer akuten heparininduzierten Thrombozytopenie stellt der direkte Thrombininhibitor Argatroban eine Heparinalternative dar. Aufgrund seiner kurzen Halbwertszeit und seiner hepatischen Elimination kann Argatroban auch bei Patienten mit hohem Blutungsrisiko sicher eingesetzt werden. Die ebenfalls zur Behandlung der HIT zugelassenen Antikoagulanzien Danaparoid und Hirudin sind wegen der langen Halbwertszeit (Danaparoid) oder der geringen therapeutischen Breite (Hirudin) Mittel der zweiten Wahl.

Auch bei Patienten mit bekannter HIT sollte auf eine Reexposition mit unfraktioniertem oder niedermolekularem Heparin verzichtet werden. Bei Intensivpatienten mit hohem Blutungsrisiko ist Argatroban eine Heparinalternative, wohingegen bei Intensivpatienten mit nicht erhöhtem Blutungsrisiko das synthetische Heparin Fondaparinux eingesetzt werden kann. Aufgrund seiner geringen molekularen Größe bildet Fondaparinux keine HIT-relevanten Immunkomplexe.

Erfordert die intensivmedizinische Behandlung von HIT-Patienten den Einsatz von extrakorporalen Zirkulationsverfahren, ist die Antikoagulation mit den alternativen Antikoagulanzien sicher möglich. Das Antikoagulationsmanagement von HIT-Patienten bei Einsatz der Herz-Lungen-Maschine wird in (▶ Kap. 43) beschrieben.

## Literatur

Betjes MG, van Oosteron D, van Agteren M, van de Wetering J (2007) Regional citrate versus heparin anticoagulation during venovenous hemofiltration in patients at low risk for bleeding: similar hemofilter survival but significantly less bleeding. J Nephrol 20: 602–608

Cook HC Jr (2004) Alternatives to heparin infusion. J Infus Nurs 27: 413–24

Crowther M, Lim W (2006) Measuring the anticoagulant effects of low molecular weight heparins in the critically ill. Crit Care 10: 150

Efird LE, Kockler DR (2006) Fondaparinux for thromboembolic treatment and prophylaxis of heparin-induced thrombocytopenia. Ann Pharmacother 40: 1383–1387

Fraisse F, Holzapfel L, Couland J-M et al. (2000) Nadroparin in the prevention of deep vein thrombosis in acute decompensated COPD. Am J Respir Crit Care Med 161: 1109–1114

Geerts W, Selby R (2003) Prevention of venous thromboembolism in the ICU. Chest 124: 357S-363S

Hull RD, Raskob GE, Brant RF, Pineo GF, Elliott G, Stein PD, Gottschalk A, Valentine KA, Mah AF (2000) Low-molecular-weight heparin vs heparin in the treatment of patients with pulmonary embolism. American-Canadian Thrombosis Study Group. Arch Intern Med 160: 229–236

Imberti D, Ageno W (2005) A survey of thromboprophylaxis management in patients with major trauma. Pathophysiol Haemost Thromb 34: 249–254

Kani C, Markantonis SL, Nicolaou C, Maggina N (2006) Monitoring of subcutaneous dalteparin in patients with renal insufficiency under intensive care: an observational study. J Crit Care 21: 79–84

Kapoor M, Kupfer YY, Tessler S (1999) Subcutaneous heparin prophylaxis significantly reduces the incidence of venous thromboembolic events in the critically ill (abstract). Crit Care Med 27 (suppl.): A69

Khouli H, Shapiro J, Pham VP, Arfaei A, Esan O, Jean R, Homel P (2006) Efficacy of deep venous thrombosis prophylaxis in the medical intensive care unit. J Intensive Care Med 21: 352–358

Lentine KL, Flavin KE, Gould MK (2005) Variability in the use of thromboprophylaxis and outcomes in critically ill medical patients. Am J Med 118: 1373–1380

Limpus A, Chaboyer W, McDonald E, Thalib L (2006) Mechanical thromboprophylaxis in critically ill patients: a systematic review and meta-analysis. Am J Crit Care 15: 402–410

Moser KM, LeMoine RJ, Nachtwey FJ et al. (1981) Deep venous thrombosis and pulmonary embolism: Frequency in a respiratory intensive care unit. JAMA 246: 1422–1424

Olin JW (2003) Pulmonary embolism. Rev Cardiovasc Med 3: S68–75

Patel R, Cook DJ, Meade MO et al.; Burden of Illness in venous Thrombo-Embolism in Critical care (BITEC) Study Investigators; Canadian Critical Care Trials Group (2005) Burden of illness in venous thromboembolism in critical care: a multicenter observational study. J Crit Care 20:341–7

Rocha AT, Tapson VF (2003) Venous thromboembolism in intensive care patients. Clin Chest Med 24: 103–122

# 43 Antikoagulation in der Kardiochirurgie

*A. Koster, W. Dietrich, F. C. Rieß*

## Einleitung

Der Einsatz der Herz-Lungen-Maschine erfordert eine möglichst reversible, potente Antikoagulation, um während der Phase des kardiopulmonalen Bypasses eine Gerinnselbildung zu verhindern. Das Antikoagulans der Wahl ist unfraktioniertes Heparin. Nach Beendigung der Bypassphase wird die antikoagulatorische Wirkung durch Protamingabe aufgehoben. Postoperative Blutungskomplikationen können durch einen Heparin-Rebound bei inadäquater Heparinneutralisation entstehen. Antifibrinolytika wie die Tranexamsäure senken den postoperativen Blutbedarf.

## 43.1 Einleitung

Die Entwicklung der modernen Herzchirurgie ist eng verbunden mit dem ersten Einsatz einer Herz-Lungen-Maschine in den frühen 1950er-Jahren und den fortschreitenden Innovationen in der Technik der extrakorporalen Zirkulation. Realisiert werden konnte diese Technik aber letztendlich nur durch die Möglichkeit, Blut, das in Kontakt mit Fremdoberflächen kommt, zu antikoagulieren und anschließend schnell den gerinnungshemmenden Effekt aufzuheben, um Blutungskomplikationen zu vermeiden. Grundlage hierfür war der pharmakologische Einsatz von unfraktioniertem Heparin und des Antidots Protamin. In den Anfängen der Herzchirurgie reduzierte sich das »Antikoagulationsmanagement« am kardiopulmonalen Bypass (CPB) vorwiegend darauf, eine Thrombosierung des Systems zu verhindern. Selbst massivere Blutungskomplikationen und die Notwendigkeit der massiven Transfusion von Fremdblutprodukten waren zunächst eher sekundäre Probleme.

Neuere Studien zeigen, dass bei kardiochirurgischen Patienten Transfusionen als ein unabhängiger Faktor für eine erhöhte Inzidenz von nosokomialen Infektionen und einer erhöhten Letalität anzusehen sind. Angesichts dieser Tatsache ist ein zentraler Aspekt eines zeitgemäßen Antikoagulationsmanagements am CPB, eine Aktivierung des Gerinnungssystems weitgehend zu verhindern, um nach der Zeit des CPB möglichst schnell eine intakte Blutgerinnung wiederherzustellen und so Blutungskomplikationen sowie die Notwendigkeit der Transfusion von Fremdblutkomponenten zu minimieren.

Die Fortentwicklung der chirurgischen Technik, gekoppelt mit modernen Materialien und Techniken des CPB, sowie ein modernes Antikoagulations- und Blutmanagement ermöglichen es heute, eine große Anzahl auch von komplexen herzchirurgischen Operationen ohne Gabe von Fremdblutprodukten durchzuführen, selbst bei Neonaten und kleinen Kindern.



## 43.2 Pathophysiologie des Gerinnungssystems während des CPB

Trotz einer »Vollheparinisierung« kommt es bei Operationen mit dem CPB zu einer massiven Aktivierung der Systeme der Gerinnung und Inflammation. Hauptursachen sind:

- das ausgedehnte chirurgische Trauma mit Freisetzung von zellulärem Tissue Factor und der daraus resultierenden Aktivierung des extrinsischen Gerinnungssystems,
- der Kontakt des Blutes mit den großen nicht endothelialen Oberflächen des CPB mit konsekutiver Aktivierung der intrinsischen Gerinnungskaskade durch das Faktor-XII-Kallikrein-Kontaktaktivierungssystem,
- der Blut-Luft-Kontakt in den Reservoiren des CPB.

Das im Rahmen dieser komplexen initialen Aktivierung des Gerinnungssystems (»initiation phase«) generierte Thrombin führt im Folgenden (»propagation phase«) zu einer massiven Thrombozytenaktivierung mit Thrombinaktivierung [1]. Vor allem bei ausgedehnten Operationen und bei Operationen am offenen Herzen wird mit Tissue Factor angereichertes Blut aus dem Wundgebiet in das Kardiotomiereservoir des CPB gesaugt, wodurch es in die Zirkulation gelangt und systemisch zu einer massiven Bildung des Faktor-VIIa-Tissue-Factor-Komplexes führt.

Des Weiteren werden während der Ischämiezeit des Herzens Zytokine gebildet und Leukozyten aktiviert, die nach Freisetzung der Zirkulation des Herzens in den Systemkreislauf gelangen und zu einer weiteren massiven Thrombinaktivierung führen [2, 3].

**! Während über Jahrzehnte der Kontakt des Blutes mit den Fremdoberflächen des CPB als der entscheidende Ausgangspunkt für die Aktivierung des Gerinnungssystems betrachtet wurde, wird heutzutage eher eine Aktivierung über Tissue-Factor-Freisetzung als dominierender Faktor angesehen [1].**

Das klinische Bild dieser Aktivierung des Gerinnungssystems ist weitgehend vergleichbar mit dem Bild einer dissi-

minerten intravasalen Gerinnung und Verbrauchskoagulopathie, in dem progredient Prokoagulatoren und Thrombozyten aktiviert und verbraucht sowie das fibrinolytische System stimuliert wird. Klinische Folge dieses Prozesses sind oftmals massive Blutungen und ggf. die Notwendigkeit der Transfusion von Fremdblutprodukten mit ihren potenziell negativen Folgen auf den weiteren klinischen Verlauf des Patienten [4–8].

Ziel eines modernen Antikoagulationsmanagements ist es, diese Kaskade der Aktivierung des Gerinnungssystems (und der Inflammation) zu hemmen. Neben Modifikationen der chirurgischen Technik und der Perfusionstechnik (Verringerung des Blut-Luft-Kontakts durch Verwendung von geschlossenen Systemen, Vermeidung von Kardiotomiesaugung, Verkleinerung des Füllvolumens der CPB-Systeme, Verwendung heparinbeschichteter Systeme etc.) erfolgt dies v. a. über Modifikationen des Heparinmanagements und die zusätzliche Gabe von Antifibrinolytika. Des Weiteren kann nach der Phase der extrakorporalen Zirkulation versucht werden, über die Gabe von gerinnungsaktivierenden Medikamenten, wie z. B. Desmopressin, die Blutgerinnung zu fördern und somit die Transfusionen von Frischplasma und Thrombozytenkonzentraten zu reduzieren.

## 43.3 Antikoagulation am kardiopulmonalen Bypass

### 43.3.1 Heparinmanagement und Monitoring

Unfraktioniertes Heparin (UFH) ist weltweit die einzige zugelassene Substanz zur Antikoagulation in der Kardiochirurgie. Standardmäßig wird dem Patienten ein Bolus von 300–400 IE/kgKG vor der Aufnahme des CPB verabreicht und die extrakorporale Zirkulation aufgenommen, wenn die aktivierte Gerinnungszeit (ACT) einen Wert von 400–480 s überschreitet. Während des CPB wird in der Regel in Abständen von 30–60 min die Bestimmung der ACT wiederholt und ggf. Heparin als Bolus (100–150 IE/kgKG) nachinjiziert bis die Ziel-ACT wieder erreicht ist. Nach dem CPB wird die Heparinwirkung mittels Protamin antagonisiert.

Obwohl ein derartiges Protokoll seit Jahrzehnten weltweit in den meisten Kliniken praktiziert wird, ist es mit zahlreichen Limitationen behaftet. UFH weist eine sehr starke interindividuelle Variabilität der Wirkung auf, sodass bei einigen Patienten nach dem initialen Bolus von UFH die ACT weit über Werte von 400 s verlängert ist. Bei anderen Patienten sind im Gegensatz dazu exzessive Heparinmengen und repetitive ACT-Bestimmungen notwendig, bis die Ziel-ACT erreicht ist bzw. aufrechterhalten werden kann.

Ferner ist die ACT ein nicht standardisierter, globaler Gerinnungstest, der über eine Oberflächenaktivierung mittels Kaolin oder Celite den Gerinnungsprozess auslöst (siehe ► Kap. 62). Eine Vielzahl von Faktoren wie Hypothermie, Hämodilution, Antithrombinkonzentration, plasmatische Gerinnungsfaktoren, Thrombozytenanzahl sowie deren Funktion beeinflussen die ACT. Daher korrelieren Testergebnisse nicht zwingend mit den Konzentrationen des Heparins im Blut. Dieses ist besonders ausgeprägt bei längeren Perfusionszeiten. Hierbei fallen die Heparinspiegel häufig im Verlauf des CPB deutlich ab, obwohl die ACT auf Werte weit über 480 s verlängert bleibt.

**Cave**

Die Folge ist, dass im Regelfall kein Heparin nachinjiziert wird, Gerinnungsvorgänge ungehemmter ablaufen und progredient Gerinnungsfaktoren verbraucht werden [9, 10].

Ein neuer ACT-Test, der versucht, dieser Problematik besser Rechnung zu tragen, ist seit einiger Zeit kommerziell erhältlich. Hierbei werden dem Oberflächenaktivator zusätzlich Phospholipide zugesetzt. Daten aus größeren Studien zur Validierung dieses Testsystems sind allerdings noch nicht verfügbar [11].

Ein weiteres etabliertes, aber seltener verwendetes Verfahren zum Heparinmanagement berechnet die Menge an Heparin und Protamin durch Titration. Unter Verwendung dieses Systems werden in der Regel deutlich höhere Heparinspiegel während des CPB aufrechterhalten und Gerinnungsvorgänge weitgehend reduziert. Diese geringere Gerinnungsaktivierung spiegelt sich klinisch in geringerem postoperativen Blutverlust und Transfusionsbedarf wider [12, 13].

### 43.3.2 Antagonisierung der Heparinwirkung

Protamin ist seit Jahrzehnten das etablierte Antidot zu Heparinen, obwohl anaphylaktische Reaktionen infolge der Verabreichung von Protamin nicht selten sind und in vereinzelten Fällen sogar lebensbedrohliche pulmonalarterielle hypertensive Krisen induziert werden.

Das aus Lachsrogen gewonnene Protamin besitzt 2 aktive Zentren; eines bindet an Heparin und hemmt dadurch dessen Wirkung, ein anderes verfügt selbst über eine milde fibrinhemmende Wirkung.

**Cave**

Somit kann eine starke Überdosierung des Protamins ebenfalls zu Blutungen führen.

Während die Wirkung von UFH weitgehend durch Protamin antagonisiert werden kann, ist die Wirkung der LMWH (niedermolekulares Heparin) nur inkomplett durch Protamin antagonisierbar.

In den letzten Jahren sind der rekombinante Plättchenfaktor 4 (PF4), der Heparin kovalent bindet und Heparinase 1, die Heparine auf enzymatischem Wege spaltet, als Alternativen zu Protamin in klinischen Studien untersucht worden. Während die Studie zur Evaluierung von Heparinase 1 aufgrund von gehäuften Komplikationen abgebrochen werden musste, ist rekombinanter PF4 in Pilotstudien erfolgreich eingesetzt worden, ohne aber bisher weitere Bedeutung in der klinischen Routine zu erlangen [14, 15, 16].

### 43.3.3 Heparinresistenz

Bei einigen Patienten sind sehr hohe Heparindosierungen von über 600 IE/kgKG erforderlich, um den geforderten ACT-Wert zu erreichen, bzw. exzessive Heparinmengen notwendig, um diesen Wert im Verlauf des CPB aufrechtzuerhalten. Bei Patienten, die sich Koronargefäßoperationen unterziehen mussten, konnte dieses klinische Bild mit einer erhöhten Myokardinfarktrate und einem schlechteren klinischen Verlauf assoziiert werden [17]. Viele dieser »heparinresistenten« Patienten weisen entweder stark erniedrigte Antithrombinspiegel oder eine Thrombozytose auf. Therapeutisch ergibt sich hier nur die Option Antithrombin (ca. 1.000–2.000 IE) zu substituieren und ggf. weiter größere Mengen UFH nachzuinjizieren.

Andere Therapieoptionen, wie z. B. die gleichzeitige Gabe eines direkten Thrombinhemmers bzw. die Gabe eines kurz wirksamen Thrombozytenhemmers, wie z.B. des Glykoprotein-IIb-IIIa-Antagonisten Tirofiban, haben zwar in Pilotstudien vielversprechende Ergebnisse gezeigt, besitzen aber gegenwärtig noch keine Zulassung in dieser Indikation [18]. In diesem Zusammenhang erscheint es auch interessant, dass stark erniedrigte Antithrombinkonzentrationen während des CPB mit einem schlechteren klinischen Outcome der Patienten assoziiert sind [17]. Dieses deutet darauf hin, dass subklinisch ablaufende Aktivierung des Gerinnungssystems und damit verbundene Inflammationsprozesse während des CPB zu Schäden an den Organsystemen führen.

### 43.3.4 Alternativen zur Antikoagulation mit Heparin am CPB

Wie einleitend bereits erwähnt, sind die unfraktionierten Heparine derzeit weltweit die einzigen zugelassenen Substanzen zur CPB-Antikoagulation. Alternative Präparate finden in seltenen Fällen ihren Einsatz, wenn Heparine streng kontraindiziert sind, hier v. a. bei Patienten mit einer heparininduzierten Thrombozytopenie (HIT; ► Kap. 31.1.3). Eine Ausnahme bildet hier der kurz wirksame direkte Thrombinhemmer Bivalirudin. Mit dem Ziel, diese Substanz bei HIT-Patienten einzusetzen, wurden Protokolle für die Antikoagulation am CPB entwickelt und in kontrollierten Studien evaluiert [19, 20]. Die Ergebnisse zeigten vergleichbare Resultate zu Heparin/Protamin hinsichtlich der Blutungsmengen und des Transfusionsbedarfs.

Ein großer Teil der plasmatischen Gerinnungsvorgänge vollzieht sich auf der Oberfläche der Thrombozyten und ist abhängig von der Aktivierung der Thrombozyten. Hieraus resultiert eine weitere Strategie zur verstärkten Hemmung der Gerinnungsaktivierung am CPB, die sogenannte »platelet anesthesia«. Hierbei wird, ähnlich der Strategie der Kardiologen bei der perkutanen Katheterintervention, Heparin mit einem potenten kurz wirksamen Thrombozytenaggregationshemmmer kombiniert, um eine bessere Verminderung der Gerinnungsaktivierung zu erzielen. Substanzen, die in diesem Sinne in präklinischen Studien bzw. Pilotstudien erfolgreich eingesetzt wurden, sind Prostaglandine und der kurz wirksame Glykoprotein-IIb-IIIa-Antagonist Tirofiban [21].

Im dem Zusammenhang muss aber deutlich gemacht werden, dass der Einsatz von Thrombozytenaggregationshemmerm am CPB zurzeit außerhalb der zugelassenen Indikation ist.

## 43.4 Pharmakologische Strategien zur Hemmung der Gerinnungsaktivierung am CPB

### 43.4.1 Heparinbeschichtung

In den vergangenen Jahrzehnten wurden unterschiedliche Verfahren entwickelt, um Fremdoberflächen mit kovalent gebundenem Heparin zu beschichten. Ziel dieser Maßnahme ist es, die Kontaktaktivierung des Gerinnungssystems an diesen Materialien zu verringern. Einerseits soll die Aktivierung der eng verbundenen Systeme der Gerinnung und der Inflammation reduziert werden (ggf. mit verringerter systemischer Antikoagulation), andererseits ein sicherer Schutz vor thromboembolischen Komplikationen erhalten werden.

Bisher sind dahingehend zwar zahlreiche Publikationen erschienen, sie brachten jedoch sehr diskrepante Ergebnisse hervor. Ungeachtet dessen haben sich heparinbeschichtete, extrakorporale Systeme in vielen Kliniken zum Standard entwickelt [22].

### 43.4.2 Antifibrinolytika und Desmopressin

Medikamente, wie z. B. Tranexamsäure und der Proteinaseinhibitor Aprotinin, werden bzw. wurden am CPB eingesetzt, um die Fibrinolyse und Gerinnungsaktivierung zu supprimieren. Während die Tranexamsäure ein reines Antifibrinolytikum ist, hemmt Aprotinin als Serinproteaseinhibitor zusätzlich die durch Faktor XIIa und Kallikrein vermittelte Kontaktaktivierung des Gerinnungssystems und nach neueren Erkenntnissen über eine Blockade des thrombozytären PAR1-Rezeptors die thrombininduzierte Aktivierung der Thrombozyten [23]. Aprotinin hat also eine milde antikoagulatorische Wirkung, welche für eine reduzierte Thrombingenerierung intra- und postoperativ verantwortlich ist. Dieser Wirkungsmechanismus des Aprotinins scheint wesentlich zu sein für die im Gegensatz zu reinen Antifibrinolytika zu beobachtenden antiinflammatorischen und Thrombozyten präservierenden Effekte.

Sowohl Tranexamsäure als auch Aprotinin wurden in zahlreichen klinischen Studien in unterschiedlichen Dosierungen hinsichtlich der Wirkung auf die Aktivierung des Gerinnungssystems und der Entzündungsantwort sowie auf Blutverlust und Transfusionsbedarf bei kardiochirugischen Eingriffen eingehend untersucht.

**! Zahlreiche Studien, Metaanalysen randomisierter und kontrollierter Studien und Empfehlungen von Fachgesellschaften belegen die Wirksamkeit von Tranexamsäure und Aprotinin hinsichtlich der Reduzierung des Blutverlusts und der Transfusionshäufigkeit.**

Darüber hinaus wurde für Aprotinin eine Verminderung der Rethorakotomierate wegen verstärkter Blutungsneigung nachgewiesen [24–26].

Im Jahr 2006 wurden zeitnah 2 retrospektive Studien publiziert, die eine Einschränkung der postoperativen Nierenfunktion nach Aprotininbehandlung nahelegten. Karkouti und Mitarbeiter analysierten die Daten eines Zentrums und verglichen die Daten von mit Aprotinin bzw. mit Tranexamsäure behandelter Patienten [27]. Mit Propensity-Score-adjustierter multivariater Technik fand sich eine signifikante Einschränkung der postoperativen Nierenfunktion, aber keine Erhöhung von postoperativer dialysepflichtiger Niereninsuffizienz unter der Behandlung von Aprotinin.

Dagegen sahen Mangano und Mitarbeiter bei der Analyse eines weltweit an vielen Herzzentren erhobenen Datensatzes ebenfalls mit Propensity-Score-adjustierter Technik nicht nur eine signifikante Einschränkung der Nierenfunktion, sondern auch eine Erhöhung der Inzidenz von Nierenversagen, Myokardinfarkt und Schlaganfall [28]. Eine im Jahr 2007 publizierte Analyse der 5-Jahres-Überlebensrate, der in der Studie von Mangano eingeschlossenen Patienten postulierte eine erhöhte 5-Jahres-Mortalität nach Aprotininbehandlung [29]. In einer weiteren internationalen Studie, die Faktoren für einen fatalen klinischen Verlauf der Patienten nach koronarchirurgischen Eingriffen untersuchte, wurde ebenfalls der Einsatz von Aprotinin mit einem schlechteren Outcome der Patienten assoziiert [30].

Das Problem dieser Studien ist, dass sie hinsichtlich der Aprotinin- oder der Tranexamsäurebehandlung nicht kontrolliert waren. In vielen Studien hatten die mit Aprotinin behandelten Patienten ein höheres Operationsrisiko als die nicht behandelten Patienten. Es ist also nicht auszuschließen, dass die mit Aprotinin behandelten Patienten wegen eines höheren präoperativen Risikos mit dem Medikament behandelt wurden und wegen eben dieses Risikos auch ein schlechteres Outcome hatten. Deshalb wurden diese Studien sehr kontrovers diskutiert.

Die kürzlich publizierte BART-Studie, die in einem randomisierten Design das Patienten-Outcome nach adjuvanter Therapie mit Aprotinin, Tranexamsäure oder ε-Aminokapronsäure verglich, zeigte in der Aprotiningruppe eine signifikant gesteigerte Mortalität [46]. Auf der Basis dieser Daten wurde Aprotinin vom Hersteller vom Markt genommen.

## 43.5 Operationen unter der präoperativen Therapie mit Inhibitoren der Thrombozytenaggregation

Vor allem Patienten, die sich einer dringlichen koronarchirurgischen Operation unterziehen müssen, stehen oftmals noch unter dem Einfluss der Therapie mit Aspirin und/oder Clopidrogel. Patienten, die notfallmäßig unter dem Bild eines akuten Koronarsyndroms operiert werden, sind häufig zusätzlich mit dem thrombozytären Glykoprotein-IIb-IIIa-Antagonisten Abciximab bzw. den kurz wirksamen Inhibitoren Tirofiban und Eptifibatide behandelt.

Während die Gabe von Aspirin mit einem nur leicht erhöhten perioperativen Blutverlust assoziiert ist, ohne aber zu einer signifikanten Erhöhung der Transfusionsrate bzw. Rethorakotomierate zu führen, deuten zahlreiche Studien darauf hin, dass unter Therapie mit Clopidogrel alle 3 Parameter signifikant erhöht sind [32]. Ähnlich erscheint die Ergebnislage hinsichtlich der Therapie mit Abciximab.

Unter der Gabe der kurz wirksamen reversiblen GP-IIb-IIIa-Antagonisten, wie z. B. Tirofiban, ergibt sich hingegen eine andere Datenlage. Angesichts der kurzen Halbwertszeit können diese Medikamente bis kurz vor der Operation (bis zur Operation bzw. 2–4 h vor der Operation) infundiert werden, um möglichst lange den protektiven Effekt auf die Myokardperfusion aufrecht zu erhalten, ohne dabei den perioperativen Blutverlust und Transfusionsbedarf zu erhöhen [33].

Bei Patienten, die unter der Therapie mit Abciximab stehen, müssen, da die Thrombozyten irreversibel gehemmt sind, Thrombozytenkonzentrate transfundiert werden. Bei Patienten, die unter der Therapie von Tirofiban stehen, kann, v. a. bei Niereninsuffizienz, eine Ultrafiltration am CPB erwogen werden, um Tirofiban, das weitgehend renal eliminiert wird, forciert zu eliminieren.

Hinsichtlich der Operationen unter Clopidrogeltherapie scheint die Gabe von Tranexamsäure Blutungskomplikationen zu reduzieren. In dieser speziellen Indikation sollte daher die Gabe eines Antifibrinolytikums während des CPB neu evaluiert werden. Gleiches gilt für die Therapie mit Desmopressin.

## 43.6 Antikoagulation bei OPCAB-Eingriffen

**Definition**

Operationen zur koronararteriellen Revaskularisation am schlagenden Herzen ohne Einsatz des CPB werden als OPCAB-Eingriffe bezeichnet (»off pump coronary artery bypass grafting«).

Da hierbei zwar eine Aktivierung des Gerinnungssystems über das chirurgische Trauma erfolgt, ohne jedoch einen »CPB-Defekt des Gerinnungssystems« zu verursachen, sind die Patienten postoperativ häufig in einer prokoagulatorischen bzw. prothrombotischen Situation. Das kann zu einer Gefährdung der Bypässe und konsekutiven Frühverschlüssen führen.

Tatsächlich wird seit Beginn der OPCAB-Chirurgie immer wieder darüber diskutiert, dass es bei diesen Verfahren zu erhöhten Frühverschlussraten kommt. Als Grund hierfür werden aber in der Regel mehr die schwierigeren chirurgischen Verhältnisse und daher ggf. schlechteren Konditionen für eine Anastomose verantwortlich gemacht, als eine thrombophile Aktivierung des Gerinnungssystems.

Problematisch hinsichtlich einer Analyse der Datenlage ist hierbei aber die Tatsache, dass es weltweit keinen Standard zum Antikoagulationsmanagement bei OPCAB-Eingriffen gibt. Zwei kürzlich erschienene Übersichten hinsichtlich der Praxis der Antikoagulation bei OPCAB-Eingriffen in den USA und Kanada sowie Europa zeigten, dass in allen Ländern erhebliche Variabilität besteht hinsichtlich der Fragen, ob Aspirin und Clopidrogel präoperativ abgesetzt werden müssen, wie viel Heparin intraoperativ injiziert wird bzw. wie hoch die Ziel-ACT ist, ob die Heparinwirkung nach Fertigstellung der Anastomosen komplett oder gezielt inkomplett antagonisiert wird bzw. wie früh postoperativ mit einer die Thrombozytenaggregation hemmenden Therapie begonnen wird [34, 35]. So schwanken z. B. die initialen Heparinmengen zwischen 150–400 IE/kgKG, die Ziel-ACT-Werte zwischen Werten <300 s und >400 s und die angestrebte Antagonisierung des Heparineffekts reicht von keiner Antagonisierung bis hin zur kompletten Aufhebung.

Eine sehr interessante Studie zur Antikoagulation bei OPCAB-Eingriffen wurde im Jahr 2004 publiziert [36]. Hier wurde die Therapie mittels Heparin/Protamin verglichen mit der Antikoagulation mit Bivalirudin, einem kurz wirksamen, direkten, reversiblen Thrombinhemmer. Die Dosierung von Bivalirudin folgte dem Dosisschema während der Koronarintervention mit einem Bolus von 0,75 mg/kgKG und einer Erhaltungsinfusion von 1,75 mg/kgKG pro Stunde. Während der perioperative Blutverlust und der Transfusionsbedarf in beiden Gruppen vergleichbar waren, zeigte sich bei den mit Bivalirudin behandelten Patienten in der 2 Monate postoperativ durchgeführten Herzkatheteruntersuchung eine deutlich geringere Frühverschlussrate.

**! Die Ergebnisse dieser Pilotstudie zeigen erstmals, dass ein Antikoagulationsmanagement einen Einfluss auf die frühe »graft patency« hat und somit ggf. eine erhöhte Frühverschlussrate bei OPCAB-Eingriffen erklären könnte.**

Ferner zeigen diese Daten und die Ergebnisse einer weiteren kontrollierten Studie, dass Bivalirudin ähnlich zu den sehr guten Ergebnissen bei der perkutanen koronaren Intervention (PCI) auch in der Kardiochirurgie, hier besonders in der koronaren Bypass-Chirurgie, eine Alternative zum Heparin darstellt [37].

## 43.7 Antikoagulation bei Patienten mit heparininduzierter Thrombozytopenie

Patienten mit der gesicherten Diagnose einer heparininduzierten Thrombozytopenie (HIT) stellen in der Kardiochirurgie ein besonderes Problem dar, da nur für UFH für die Antikoagulation des CPB bzw. für Eingriffe ohne CPB eine Zulassung besteht. Bei allen Limitationen, die vorgehend beschrieben wurden, kennzeichnet sich das Sicherheitsprofil von UFH für die Hochdosisantikoagulation im operativen Bereich durch 3 zentrale Elemente:

- eine sofort einsetzende Wirkung,
- ein verlässliches Point-of-Care-Monitoring (POC) des Effekts bzw. der notwendigen Plasmaspiegel, wie z. B. die ACT,
- eine schnelle von speziellen Organfunktionen unabhängige Elimination bzw. die Aufhebung über ein Antidot, wie z. B. Protamin.

Keines der neueren alternativen Antikoagulanzien erfüllt diese Kriterien. Eine annähernde Ausnahme bildet hier nur Bivalirudin, das derzeit einzige alternative Antikoagulans, das in kontrollierten klinischen Studien zur Antikoagulation am CPB und bei OPCAB-Operationen untersucht wurde. Eine Zulassung für die intraoperative Antikoagulation bei OPCAB-Eingriffen und am CPB bei Patienten mit HIT ist in den USA und Europa beantragt.

In den letzten Jahren sind einige Protokolle zur Antikoagulation von Patienten mit einer HIT am CPB beschrieben worden [38]. Eine sehr gute Hilfe hinsichtlich der Auswahl der Verfahren geben die Richtlinien des American College of Chest Physicians (ACCP; [39]).

### 43.7.1 Patienten ohne aktuellen HIT-Antikörper-Nachweis

HIT-Antikörper sind transient. Die Bildung bzw. Neubildung auch nach Anamnese einer HIT bedarf einer Exposition mit Heparinen von ca. 5–10 Tagen. Deshalb sollte bei Patienten mit der Anamnese einer HIT ohne aktuellen Antikörpernachweis bzw. bei Patienten, bei denen der Eingriff aufgeschoben werden kann bis keine Antikörper mehr nachzuweisen sind (ca. 40–100 Tage), intraoperativ UFH gegeben werden.

**Cave**

Prä- und postoperativ sind Heparine zu vermeiden.

### 43.7.2 Patienten mit aktuellem HIT-Antikörper-Nachweis

**! Bei Patienten mit aktuellen HIT-Antikörpern, bei denen der Eingriff nicht aufgeschoben werden kann, gilt als Medikament der ersten Wahl Bivalirudin.**

Es liegen ausgearbeitete und validierte Protokolle zur Dosierung vor, die Eliminationshalbwertszeit (EHWZ) ist mit ca. 25–30 min kurz und weitgehend unabhängig von Organfunktionen, sodass, obwohl kein Antidot vorhanden ist, eine schnelle Aufhebung der Wirkung sichergestellt ist. Gerade bei OPCAB-Operationen ist das Management mit Bivalirudin relativ einfach, sodass bei koronarchirurgischen Eingriffen diese Option besonders zu empfehlen ist.

Lepirudin wurde ebenfalls am CPB eingesetzt. Es existieren ausgearbeitete und validierte Protokolle zur Dosierung. Das Monitoring muss über eine Messung der »ecarin clotting time« (ECT) erfolgen. Aufgrund der relativ langen Eliminationshalbwertszeit von ca. 60–80 min, die bei Niereninsuffizienz dramatisch verlängert wird, und des Fehlens eines Antidots ist Vorsicht bei niereninsuffizienten Patienten geboten, um exzessive Blutungskomplikationen zu vermeiden.

Eine weitere Option ist die Kombination von UFH mit einem potenten, kurz wirksamen Thrombozytenfunktionshemmer wie den Prostaglandinen (z. B. Iloprost und Epoprostenol) oder dem Glykoprotein-IIb-IIIa-Antagonisten Tirofiban, um die HIT-Antikörper-bedingte Aktivierung der Thrombozyten zu hemmen und die HIT-Reaktion abzuschwächen. Es stehen ausgearbeitete Protokolle zur Verfügung, wobei bei den Prostaglandinen die ausgesprochen hypotensive Wirkung beachtet werden muss. Tirofiban hat keine hämodynamischen Nebenwirkungen. Vorsicht ist geboten, wenn die Patienten eine ausgeprägte Niereninsuffizienz aufweisen. Hier ist ggf. nach dem CPB eine extrakorporale Elimination von Tirofiban mittels Hämofiltration erforderlich. Prä- und unmittelbar postoperativ erfolgt die Antikoagulation mit alternativen Substanzen wie Lepirudin bzw. Argatroban bzw. auch Danaparoid.

Danaparoid wurde ebenfalls mit verschiedenen Protokollen am CPB eingesetzt. Aufgrund der langen EHWZ von 20 h, des Fehlens eines adäquaten POC-Monitorings und eines Antidots sowie beschriebener Blutungskomplikationen und CPB-Thrombosen sollte diese Substanz nicht zur Antikoagulation während des CPB eingesetzt werden.

**! Grundsätzlich gilt, dass Operationen, wenn möglich, aufgeschoben werden sollten, bis die Patienten keine HIT-Antikörper mehr aufweisen.**

Alternative Verfahren und v. a. der Einsatz von Medikamenten wie Bivalirudin und Lepirudin sollten nur erfolgen, wenn Erfahrung im Management mit diesen Substanzen besteht bzw. im Vorfeld gut standardisierte Protokolle in der Klinik ausgearbeitet wurden. Ansonsten ist, wenn möglich, gerade bei komplexeren Operationen die Verlegung in ein Zentrum mit entsprechender Erfahrung anzuraten.

## 43.8 Management von Blutungskomplikationen

Neuere Untersuchungen zeigen den teilweise fatalen Einfluss der Transfusion von Fremdblutprodukten auf den klinischen Verlauf des Patienten [4–6]. Neben einem zeitgemäßen Antikoagulationsmanagement zur Präservierung des Gerinnungspotenzials ist hier von zentraler Bedeutung, nach der Zeit des CPB schnell eine adäquate Hämostase herzustellen. Wichtig erscheint in dem Zusammenhang, zuerst eine chirurgische Ursache für die Blutung auszuschließen bzw. den Nachweis zu führen, dass eine chirurgische Blutungsquelle wahrscheinlich ist, indem nachgewiesen wird, dass ein adäquates Gerinnungspotenzial vorliegt.

Hierfür eignen sich v. a. Tests wie die Thrombelastographie (TEG), die relativ schnell einen Hinweis auf eine Gerinnungsstörung geben kann. Über den Zusatz z. B. von Heparinase kann gleichzeitig ein residueller Heparineffekt als mögliche Ursache einer vermehrten Blutungsneigung nachgewiesen bzw. ausgeschlossen werden. Über die In-vitro-Zugabe von weiteren Reagenzien wie einem Gykoprotein-IIb-IIIa-Inhibitor wird ggf. noch besser zwischen einer verminderten Fibrinogen- bzw. Fibrinbildung und einer Blutung aufgrund von Thrombozytopenie bzw. -pathie differenziert [40]. Die entscheidende Information aus diesen Testergebnissen scheint aber ggf. der Nachweis eines intakten Gerinnungssystem zu sein, um dann einen blutenden Patienten schnell chirurgisch zu revidieren, anstatt zunächst unkontrolliert und unnötigerweise Plasmafaktoren und Thrombozytenkonzentrate zu transfundieren [41].

Bei Vorliegen einer diffusen Gerinnungsstörung kann, v. a. abhängig von den Resultaten der Labordiagnostik, neben der Gabe von Faktorenpräparaten, Frischplasmakonzentraten und Thrombozytenkonzentraten die Gabe von Desmopressin erwogen werden. In der bereits zitierten Metaanalyse aus dem Jahr 1999 konnte gezeigt werden, dass die Gabe von Desmopressin zu einer geringfügigen Reduktion des perioperativen Blutverlusts führte, ohne den perioperativen Transfusionsbedarf oder die perioperative Mortalität zu beeinflussen [22]. Andere Untersuchungen zeigten eine Reduktion von Blutverlust und Transfusionen nach gezielter Gabe von Desmopressin [42]. Unter der Gabe von Desmopressin wurde allerdings auch eine 2,4-fach gesteigerte Inzidenz von Myokardinfarkten beobachtet. Angesichts dieser Datenlage muss auch die perioperative Gabe von Desmopressin sehr kritisch beurteilt werden.

Bei massiven diffusen Gerinnungsstörungen ist die Gabe von Faktor VIIa zu erwägen. Auch hier ist die Datenlage noch nicht eindeutig, und es bestehen Hinweise auf thrombotische Komplikationen nach Gabe dieser Substanz [43–45]. Neue Studien werden besseren Aufschluss über Risiken und Nutzen dieser hochpotenten und sicherlich sehr interessanten Substanz geben.

## Literatur


[1] Edmunds LH, Colman RW (2006) Thrombin generation during cardiopulmonary bypass. Ann Thorac Surg 82: 2315–22

[2] Chandler WL, Velan T (2003) Estimating the rate of thrombin and fibrin generation in vivo during cardiopulmonary bypass. Blood 101: 4355–4362

[3] Despotis GJ, Avidan MS, Hogue CW (2001) Mechanisms and attenuation of hemostatic activation during extracorporeal circulation. Ann Thorac Surg 72: S1821–31

[4] Rogers MA, Blumberg N, Saint SK, Kim C, Nallamothou BK, Langa KM (2006) Allogenic blood transfusions explain increased mortality in woman after coronary artery graft surgery. Am Heart J 152: 1028–1034

[5] Leal-Noval SR, Rincon-Ferrari MD, Garcia-Curiel A et al. (2001) Transfusion of blood components and postoperative infection in patients undergoing cardiac surgery. Chest 119: 1461–1468

[6] Karkouti K, Wijeysundera DN, Yua TM et al. (2004) The independent association of massive blood loss with mortality in cardiac surgery. Transfusion 44: 1453–1462

[7] Koch CG, Li L, Duncan AI, Mihaljevic T, Cosgrove DM, Loop FD, Starr NJ, Blackstone EH (2006) Morbidity and mortality risk associated with red blood cell and blood-component transfusion in isolated coronary artery bypass grafting. Crit Care Med 34: 1608–16 3

[8] Koch CG, Li L, Duncan AI, Mihaljevic T, Loop FD, Starr NJ, Blackstone EH (2006) Transfusion in coronary artery bypass grafting is associated with reduced long-term survival. Ann Thorac Surg 81: 1650–7

[9] Despotis GJ, Gravelee G, Filos K, Levy J (1999) Anticoagulation Monitoring during cardiac surgery. Anesthesiology 91: 1122–1151

[10] Shore-Lesserson L (2003) Monitoring anticoagulation and hemostasis in cardiac surgery. Anesthesiology Clin N Am 21: 511–526

[11] Svenmarker S, Appleblad M, Jansson E, Haggmark S (2004) Measurement of the activated clotting time during cardiopulmonary bypass: differences between Memotec ACT and Hemochron Jr apparatus. Perfusion 19: 289–294

[12] Despotis GJ, Joist JH, Hogue CW Jr et al. (1996) The impact of heparin concentration and activated clotting time monitoring on blood conservation. A prospective randomized evaluation in patients undergoing cardiac operation. J Thorac Cardiovasc Surg 111: 493–54

[13] Koster A, Fischer T, Praus M et al. (2002) Hemostatic activation and inflammatory response during cardiopulmonary bypass: impact of heparin management. Anesthesiology 97: 837–841

[14] Dehmer GJ, Lange RA, Tate DA et al. (1996) Randomized trial of recombinant platelet factor 4 versus protamine for the reversal of heparin anticoagulation in humans. Circulation 94 (9 Suppl): I1347–52

[15] Mixon TA, Dehmer J (2004) Recombinant platelet factor for heparin neutralization. Semin Thromb Hemost 30: 369–77

[16] Staffort-Smith M, Lefrak EA, Qazi AG et al. (2005) Efficacy and safety of heparinase versus protamine in patients undergoing coronary artery bypass grafting with and without cardiopulmonary bypass. Anesthesiology 103: 229–40

[17] Ranucci M, Frigiola A, Menicanti L, Cazzaniga A, Soro G, Isgro G (2001) Risk factors for fatal myocardial infarction after coronary bypass graft surgery. Eur J Anaesthesiol 18: 322–329

[18] Koster A, Fischer T, Gruendel M et al. (2003) Management of heparin resistance during cardiopulmonary bypass: the effect of five different anticoagulation strategies on hemostatic activation. J Cardiothorac Vasc Anesth 17: 171–175

[19] Koster A, Spiess B, Chew DP et al. (2004) Effectiveness of bivalirudin as a replacement for heparin during cardiopulmonary bypass in patients undergoing coronary artery bypass surgery. Am J Cardio 93: 356–9

[20] Dyke CM, Smedira NG, Koster A et al. (2006) A comparison of bivalirudin to heparin with protamine reversal in patients undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass: The EVOLUTION-ON study. J Thorac Cardiovasc Surg 131: 533–9

[21] Koster A, Chew DP, Kuebler W et al. (2003) Effects of tirofiban on hemostatic activation and inflammatory response during cardiopulmonary bypass. Am J Cardiol 91: 346–347

[22] Aldea GS, Soltow LO, Chandler WL et al. (2002) Limitation of thrombin generation, platelet activation, and inflammation by elimination of cardiotomy suction in patients undergoing coronary artery bypass grafting treated with heparin bonded circuits. J Thorac Cardiovasc Surg 123: 742–755

[23] Landis RC, O Hascard, KM Taylor (2001) New inflammatory and platelet preserving effects of aprotinin. Ann Thorac Surg 72: S1808–1813
[24] Levi m, Cromheecke ME, deJonge E et al. (1999) Pharmacological strategies to decrease excessive blood loss in cardiac surgery: a meta-analysis of clinically relevant endpoints. Lancet 254: 1940–1947
[25] Brown JR, Birkmeyer NJ, O'Connor GT (2007) Meta-analysis comparing the effectiveness and adverse outcomes of antifibrinolytic agents in cardiac surgery. Circulation 115: 2801–13
[26] Ferraris VA, Ferraris SP, Saha SP et al. (2007) Perioperative blood transfusion and blood conservation in cardiac surgery: the Society of Thoracic Surgeons and The Society of Cardiovascular Anesthesiologists clinical practice guideline. Ann Thorac Surg 83: S27–86
[27] Karkouti K, Beattie WS, Dattiilio KM et al. (2006) A propensity score case-control comparison of aprotinin and tranexamic acid in high-transfusion-risk cardiac surgery. Transfusion 46: 327–328
[28] Mangano DT, Tudor IC, Dietzel C (2006) Multicenter Study of perioperative ischemia research group; Ischemia research and education Foundation. The risk associated with aprotinin in cardiac surgery. N Engl J Med 354: 353–365
[29] Mangano DT, Miao Y, Vuylsteke A et al. (2007) Investigators of the multicenter study perioperative ischemia research group; ischemia research and education foundation. JAMA 297: 471–479
[30] Ott E, Mazer CD, Tudor IC et al. for the Multicenter Study of Perioperative Ischemia Research Group and the Ischemia Research and education Foundation Investigators (2007) Adverse cerebral outcomes after coronary bypass surgery. J Thorac Cardiovasc Surg 2007 133: 1242–1251
[31] Dietrich W, Ebell A, Busley R, Boulesteix AL (2007) Aprotinin and anaphylaxis: analysis of 12,403 exposures to aprotinin in cardiac surgery. Ann Thorac Surg 84: 1144–1150
[32] Kapetanakis EI, Medlam DA, Boyce SW et al. (2005) Clopidrogel administration prior to coronary artery bypass grafting surgery: the cardiologists panacea or the surgeons hedaache? Eur heart J 26: 576–83
[33] Bizzarri F, Scoletta S, Tucci E et al. (2001) Perioperative use of tirofiban hydrochloride (aggrastat) does not increase the surgical bleeding after emergency or urgent coronary artery bypass grafting. J Thorac Cardiovasc Surg 122: 1181–1185
[34] D'Ancona G, Donias HW, Karamanoukian RL, Bergsland J, Karamanoukian HL (2001) OPCAB therapy survey: off-pump clopidrogel, aspirin or both therapy survey. The Heart Surg Forum 4 (4): 354–358
[35] Hansen KH, Hughes P, Steinbüchel DA (2005) Antithrombotic- and anticoagulation regimes in OPCAB surgery. A nordic survey. Scandinavian Cardiovascular Journal 39: 369–374
[36] Merry A, Raudviki PJ, Middelton NG et al. (2004) Bivalirudin versus heparin and protamine in off-pump coronary artery bypass surgery. Ann Thorac Surg 77: 925–931
[37] Smedira NG, Dyke MD, Koster A et al. (2006) Anticoagulation with bivalirudin for off-pump coronary artery bypass grafting: The results of the EVOLUTION-OFF study. J Thorac Cardiovasc Surg 131: 686–92
[38] Warkentin TE, Greinacher A (2003) Heparin-induced thrombocytopenia and cardiac surgery. Ann Thorac Surg 76: 2121–31
[39] Warkentin TE, Greinacher A (2004) heparin-induced thrombocytopenia: recognition, treatment, and prevention: the seventh ACCP conference on antithrombotic and thrombolytic therapy. Chest 126: 311S-337S
[40] Shore-Lesserson L (2005) Evidence based coagulation monitors: Heparin Monitoring, Thrombelastography, and platelet function. Seminars in Cardiothoracic and Vascular Anesthesia 9: 41–52
[41] Cammerer U, Dietrich W, Rampf et al. (2003) The predictive value of modified computerized thrombelastography and platelet function analysis for postoperative blood loss in routine cardiac surgery. Anesth Analg 96: 51–57
[42] Despotis GJ, Levine V, Saleem R et al. (1999) Use of point of care testing in identification of patients who can benefit from desmopressin during cardiac surgery. A randomized controlled trial. Lancet 354: 106–110
[43] Mannucci PM, Levi M (2007) Prevention and treatment of major blood loss. N Engl J Med 356: 2301–11
[44] Karkouti K, Beatie WS, Crowther MA et al. (2007) The role of recombinant factor VIIa in on-pump cardiac surgery. Proceedings of the Canadian Consensus Conference. Can J Aneaest 54: 573–582
[45] O'Connell KA, Wood JJ, Wise RP, Lozier JN, Braun MM (2006) Thromboembolic adverse events after use of recombinant human coagulation factor VIIa. JAMA 295: 293–298
[46] Fergusson DA, Hébert PC, Mazer CD et al.; BART Investigators (2008) A comparison of aprotinin and lysine analogues in high-risk cardiac surgery. N Engl J Med 358(22): 2319–31

# 44 Bridging von oralen Antikoagulanzien

*H. Omran, C. Hammerstingl*

## Einleitung

Unter Bridging versteht man die Überbrückung der Unterbrechung einer oralen Antikoagulationstherapie vor interventionellen oder operativen Eingriffen mit einem alternativen, kurz wirksamen, gerinnungshemmenden Präparat, in der Regel einem Heparin.

In der Indikationsstellung zum Bridging sollte das prozedurale Blutungsrisiko gegenüber dem Thromboembolierisiko abgewogen werden. Dabei muss berücksichtigt werden, dass das Blutungsrisiko in der Regel höher ist als das Risiko einer Thromboembolie (ca. 1%).

Niedermolekulare Heparine haben für die Umstellung einer oralen Antikoagulation ein günstiges Wirkprofil. Studien haben gezeigt, dass mit niedermolekularem im Vergleich zu unfraktioniertem Heparin eine Antikoagulation schneller und im Verlauf der Therapie besser eingestellt werden kann.

## 44.1 Hintergrund der Anwendung von Vitamin-K-Antagonisten

Eine effektive, orale Antikoagulation mit Vitamin-K-Antagonisten kann die jährliche Inzidenz von Thromboembolien bei Patienten mit Vorhofflimmern, mechanischem Herzklappenersatz, rezidivierenden Thrombosen oder angeborenen Gerinnungsdefekten signifikant senken. In Deutschland leben derzeit mehr als 800.000 Patienten, die dauerhaft oral antikoaguliert werden. Das Risiko für thromboembolische Komplikationen ist bei Patienten mit mechanischem Herzklappenersatz ohne ausreichende Antikoagulation besonders hoch (Abb. 44.1). Es beträgt in Abhängigkeit des Klappentyps und der Begleiterkrankungen bis über 50% pro Jahr (Gohlke-Barwolf et al. 1995).

**! Die weitaus größte Gruppe unter den Patienten, die eine orale Antikoagulation einnehmen, sind Patienten mit Vorhofflimmern. Vorhofflimmern ist einer der Hauptrisikofaktoren für zerebrale oder periphere Embolien und ist verantwortlich für 15–20% aller ischämischen Schlaganfälle ab dem 60. Lebensjahr.**

Die Inzidenz von Vorhofflimmern steigt mit zunehmendem Alter, und zwar um das 2-fache pro Dekade nach dem 55. Lebensjahr. Die Prävalenz von Vorhofflimmern liegt bei ca. 5% aller Patienten über 65 Jahre und steigt bis über 25% ab einem Alter von 85 Jahren. Derzeit geht man davon aus, dass in Deutschland ca. 1,5% aller Menschen unter Vorhofflimmern leiden, das entspricht ungefähr 1.000.000 Menschen.

Im Gegensatz zu Patienten mit mechanischem Herzklappenersatz ist das durchschnittliche Thromboembolierisiko bei Patienten mit Vorhofflimmern geringer. Es liegt in der Gesamtpopulation zwischen 4 und 8% pro Jahr. Ein besonders hohes Risiko für thromboembolische Komplikationen (bis zu 18% pro Jahr) haben Patienten nach frischen zerebralen Ischämien oder dem Nachweis intraatrialer Thromben und/oder spontanem Echokontrast in der transösophagealen Echokardiographie (European Atrial Fibrillation Trial Study Group 1993).

Die aktuelle Datenlage ermöglicht eine individuelle Risikoabschätzung (Gage et al. 2001; $CHADS_2$-Score: »chronic heart failure, hypertension, age, diabetes, stroke«). Aktuelle Metaanalysen haben gezeigt, dass Patienten mit mehreren begleitenden Risikofaktoren langfristig

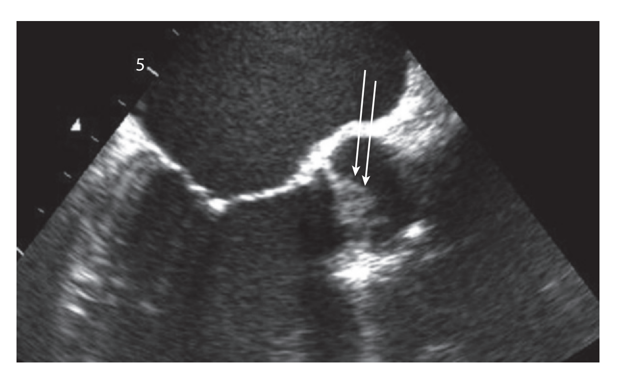



**Abb. 44.1.** Thrombose einer Aortenklappenprothese (mit Pfeilen markiert) unter ineffektiver Bridging-Therapie

**Tab. 44.1.** Jährliches Thromboembolierisiko nach mechanischem Herzklappenersatz (Singer et al. 2004)

| Position | Ohne Antikoagulation [%] | Mit oraler Antikoagulation [%; INR 2,0–4,5] |
|---|---|---|
| Aortenklappe | 12,3 | 2,2 |
| Mitralklappe | 22,2 | 2,8 |
| Doppelklappen | 91,0 | 3,5 |

**Tab. 44.2.** Jährliches Thromboembolierisiko bei Patienten mit Vorhofflimmern und verschiedenen Risikofaktoren ($CHADS_2$-Score*)

| Punkte | Jährliche Embolierate (%) |
|---|---|
| 0 | 1,9 |
| 1 | 2,8 |
| 2 | 4,0 |
| 3 | 5,9 |
| 4 | 8,5 |
| 5 | 12,5 |
| 6 | 18,2 |

* $CHADS_2$-Score: Jeweils 1 Punkt für Herzinsuffizienz (C), Hypertonie (H), Alter >75 Jahre (A), Diabetes (D) sowie 2 Punkte für Schlaganfall (neurologisches Ereignis; S)

von einer gerinnungshemmenden Therapie mit einem Vitamin-K-Antagonisten profitieren (Hart et al. 2007; Tab. 44.2).

Seltenere Indikationen für eine dauerhafte orale Antikoagulation sind rezidivierende venöse Thrombosen, wiederholte Thromboembolien oder kombinierte angeborene Gerinnungsdefekte.

## 44.2 Problematik der Umstellung der oralen Antikoagulation

Wird die orale Antikoagulation vor Interventionen oder operativen Eingriffen unterbrochen, sind die Patienten dem ursprünglich erhöhten Thromboserisiko wieder ausgesetzt. Die tatsächliche Inzidenz von Thromboembolien bei der kurzen Unterbrechung einer oralen Antikoagulation ist unbekannt, da hierzu Daten aus prospektiven Studien fehlen. Hinzu kommt, dass die Wahrscheinlichkeit von Thromboembolien in der periinterventionellen Phase relevant erhöht ist, infolge einer Aktivierung des Gerinnungssystems durch den Eingriff selbst und durch das Ab- und Ansetzen des oralen Vitamin-K-Antagonisten (Gohlke-Bärwolf et al. 2000).

Deswegen sollen gemäß den aktuellen Leitlinien zur gerinnungshemmenden Therapie alle Patienten mit einem deutlich erhöhten Thromboembolierisiko nach Unterbrechung der oralen Antikoagulation einer alternativen Therapie zugeführt werden, um thromboembolische Komplikationen zu vermeiden (Singer et al. 2004; ACC/AHA/ESC 2006). Dieses Vorgehen wird in der Literatur auch als Überbrückungstherapie oder Bridging bezeichnet.

**Definition**

Beim Bridging wird die orale Antikoagulation vor einer diagnostischen oder therapeutischen Maßnahme unterbrochen oder in einen subtherapeutischen Bereich überführt und überlappend eine effektive Antikoagulation – in der Regel unfraktioniertes oder niedermolekulares Heparin – eingeführt. Die überbrückende Antikoagulation wird so lange fortgeführt, bis nach dem Eingriff eine effektive, orale Antikoagulation gewährleistet ist.

Es existieren nur wenige prospektive Studien, die sich mit der Problematik des periinterventionellen Managements einer oralen Antikoagulation beschäftigen. Dies hat dazu geführt, dass eine Vielzahl unterschiedlicher Vorschläge zur Durchführung eines Bridging existieren.

Eine sorgfältige Indikationsstellung und Planung des Bridgings ist notwendig, um periinterventionell eine überhöhte Rate an Blutungen und Thromboembolien zu vermeiden (Dunn u. Turpie 2003). Eine weitere Problematik entsteht dadurch, dass die in Deutschland überwiegend eingesetzten niedermolekularen Heparine zum Bridging nicht formell zugelassen sind. Trotzdem handelt es sich beim Einsatz von niedermolekularen Heparinen in dieser Indikation um einen bestimmungsgemäßen Gebrauch, da das Arzneimittel entsprechend dem Stand der Medizin und Wissenschaft verwendet wird. Nachfolgend wird die aktuelle Datenlage zusammengefasst, und es werden entsprechende Empfehlungen für die Praxis ausgesprochen.

## 44.3 Einschätzung des Blutungsrisikos bei operativen Eingriffen

Die Entscheidung über die Art und Stärke des Bridgings orientiert sich an dem individuellen Thrombose- und Blutungsrisiko. Bei der Beurteilung des Blutungsrisikos spielen patientenbezogene und eingriffsspezifische Faktoren eine entscheidende Rolle:

- Komplexität und Schweregrad des Eingriffs,
- begleitende perioperative Komplikationen und Blutungsgefahr des Eingriffs,
- Einnahme anderer Medikamente (ASS, nicht steroidale Antiphlogistika),
- erworbene und angeborene Störungen des Hämostasesystems.

Üblicherweise wird zwischen Eingriffen mit hohem Blutungsrisiko und solchen mit niedrigem Risiko unterschieden. Zu den Eingriffen mit hohem Risiko gehören größere allgemeinchirurgische, urologische und herzchirurgische Eingriffe sowie neurochirurgische Operationen. Auch bei

kardiovaskulären Interventionen (perkutane transluminale koronare Angioplastie [PTCA], Stentimplantation) besteht aufgrund der begleitenden Gabe von Antikoagulanzien und Aggregationshemmern ein hohes Blutungsrisiko. Alle anderen Interventionen werden häufig pauschal als Eingriffe mit niedrigem Blutungsrisiko klassifiziert. Es muss jedoch bedacht werden, dass minimalinvasiv geplante Eingriffe bei Zwischenfällen ausgeweitet werden können. Daher sollte im Zweifelsfall eine orale Antikoagulation unterbrochen werden (Bauersachs et al. 2007).

Für eine Reihe von kleineren operativen Eingriffen ist belegt, dass diese auch unter einer fortlaufenden oralen Antikoagulation sicher durchgeführt werden können (Ickx u. Steib 2006):

- Zahnextraktionen,
- dermatologische Operationen,
- Kataraktoperationen,
- Augenlidoperationen,
- Endoskopie ohne Biopsie des oberen und unteren Gastrointestinaltrakts,
- Infiltrationen, Impfungen s.c.,
- Gelenkpunktionen.

Vor der geplanten Untersuchung ist eine Kontrolle der Gerinnungsparameter erforderlich, der INR-Wert (International normalized Ratio) soll in einen Bereich an der unteren therapeutischen Grenze überführt werden (1,8–2). Bei deutlich überhöhten INR-Werten muss das Antikoagulans zunächst pausiert werden, um Blutungen zu vermeiden. Eine Ausnahme bilden Patienten, die eine mechanische Herzklappe in Mitralposition tragen. Bei diesen Patienten besteht ein sehr hohes Risiko zur Entwicklung einer Klappenthrombose, sodass ein Bridging auch bei Eingriffen mit niedrigem Blutungsrisiko indiziert ist. Die Tab. 44.3 bietet einen Überblick über die verfügbaren Daten zur Sicherheit verschiedener Interventionen unter fortgeführter oraler Antikoagulation.

Aufgrund der Ergebnisse der zitierten Studien veröffentlichten einige Fachgesellschaften Therapierichtlinien, in denen das perioperative Management einer oralen Antikogulation eingriffsspezifisch festgelegt wird (siehe Übersicht).

**Blutungsrisiko endoskopischer Untersuchungen (Glenn et al. 2002)**

- **Geringes Blutungsrisiko, kein Bridging**
  - diagnostische Ösophagogastroduodenoskopie, ggf. plus Biopsie
  - flexible Sigmoidoskopie, ggf. plus Biopsie
  - Koloskopie, ggf. plus Biopsie
  - endoskopische retrograde Cholangiopankreatikographie (ERCP), biliärerer/pankreatischer Stent ohne Sphinkterotomie
  - Endosonographie ohne Feinnadelaspiration
  - Enteroskopie
- **hohes Blutungsrisiko, Bridging**
  - Polypektomie
  - ERCP mit Papillotomie
  - pneumatische Bougierung, Dilatation
  - PEG-Anlage
  - Feinnadelaspiration
  - Laserablation und -koagulation
  - Varizenbehandlung

## 44.4 Einschätzung des Thromboserisikos bei operativen Eingriffen

Studien zum perioperativen Management einer oralen Antikoagulation (Kovacs et al. 2004) haben belegt, dass das interventionelle Risiko dieser Patienten wesentlich von der Inzidenz größerer Blutungen bestimmt wird. Dennoch muss das Thromboembolierisiko in der Bridging-Strategie berücksichtigt werden. In der Praxis bleibt es eine wichtige therapeutische Herausforderung, die Balance zu finden zwischen dem individuellen thromboembolischen Risiko des Patienten und dem interventionsbedingten Blutungsrisiko.

Es scheint sinnvoll, dass bei Patienten mit einem geringeren Thromboembolierisiko eine effektive gerinnungshemmende Therapie so lange unterbrochen wird, bis postoperativ stabile Wundverhältnisse erreicht sind.

Die aktuellen Therapieempfehlungen der ACC/AHA/ESC 2006 berücksichtigen dies und empfehlen zur Behand-

**Tab. 44.3.** Daten zur Sicherheit verschiedener Eingriffe unter fortgeführter oraler Antikoagulation (OAK)

| Eingriff | Studie | Blutungen | Embolien |
|---|---|---|---|
| Zahnärztlich (Wahl 1998) | OAK fortgeführt | 12 (n=2014; 0,6%) | 0 |
| | OAK pausiert | 0 | 5 (n=493; 1%) |
| Augenärztlich (OP vordere Augenkammer; McCormack et al. 1993) | OAK fortgeführt | 0 (n=50) | 0 (n=50) |
| Dermatologisch/Biopsie (Otley et al. 1996) | OAK fortgeführt | 0 (n=653) | 0 (n=653) |

lung von Patienten mit Vorhofflimmern mit niedrigem Thromboembolierisiko, die Antikoagulation bis zu 7 Tage zu pausieren. Die praktischen Erfahrungen zeigen jedoch, dass die mittlere Dauer einer Bridging-Phase bei nahezu allen Patienten 7 Tage überschreitet, und es bleibt unklar, wie die weitere Therapie geplant werden soll. Im Gegensatz zu den oben genannten Theapieempfehlungen wird in den ACCP-Leitlinien von 2004 empfohlen, bei Patienten mit einem nicht hohen Embolierisiko die Dosis des Bridging-Antikoagulanz zu reduzieren. Dies bildet die klinische Realität unserer Erfahrung nach besser ab.

Interessanterweise fanden bisher weder ACCP noch ACC/AHA/ESC-Richtlinien in einer Studie oder Register Anwendung. Beide Leitlinien beruhen auf Expertenempfehlungen, deren Sicherheit und Durchführbarkeit nicht eindeutig belegt ist (Singer et al. 2004, ACC/AHA/ESC 2006).

## 44.5 Durchführung

### 44.5.1 Bridging mit unfraktioniertem Heparin

Unfraktioniertes Heparin (UFH) ist seit vielen Jahrzehnten ein wichtiges Medikament zur Behandlung einer frischen Beinvenenthrombose oder Lungenembolie. Die Notwendigkeit einer regelmäßigen Kontrolle der partiellen Thromboplastinzeit (PTT) und die intravenöse Gabe von UFH erfordern eine Hospitalisierung des Patienten, wodurch teilweise hohe Therapiekosten entstehen. Aus ◘ Tab. 44.4 ist zu ersehen, dass die Datenlage zum Bridging mit UFH begrenzt ist. Meist handelt es sich um retrospektive Analysen einzelner operativer Fachbereiche (Katholi et al. 1978; Mehra et al. 2000; Chakravarti u. MacDermott 1998; Madura et al. 1994), für eine Vielzahl von Interventionen liegen jedoch keine Informationen aus prospektiven Studien oder Registern vor. In einer kürzlich veröffentlichten Studie konnte gezeigt werden, dass die Raten großer Blutungen bei 5,5% und Thromboembolien bei 2,4% liegen (Spyropoulos et al. 2006). Der Patient sollte daher auf dieses Risiko bei der Planung der Bridging-Therapie hingewiesen werden.

### 44.5.2 Bridging mit niedermolekularem Heparin

Die hohe Bioverfügbarkeit des niedermolekularen Heparins (NMH) und der gut vorhersagbare gerinnungshemmende Effekt ermöglicht es, durch eine subkutane Gabe effektive Wirkstoffspiegel im Blut aufrechtzuerhalten. Aufgrund der engen Dosis-Wirkungs-Beziehung muss in der Regel keine Überwachung der laborchemischen Gerinnungsparameter erfolgen. Die Therapie kann häufig ambulant durchgeführt werden, wodurch die gesamten Therapiekosten im Vergleich zu UFH signifikant reduziert werden können (Spyropoulos et al. 2004). Darüber hinaus ist unter NMH das Risiko, eine Osteoporose bzw. eine heparininduzierte Thrombozytopenie zu entwickeln, geringer als unter einer Therapie mit UFH (Hirsh et al. 2001).

Es stehen verschiedene NMH zur Verfügung, deren Einsetzbarkeit auf dem Gebiet des Bridging unterschiedlich gut evaluiert wurde. Keine der Substanzen verfügt über eine formelle arzneimittelrechtliche Zulassung. Die Ergebnisse aus mindestens 2 prospektiven randomisierten Studien zeigen, dass beim Bridging mit niedermolekularem im Vergleich zu unfraktioniertem Heparin eine effektive gerinnungshemmende Therapie schneller und im Verlauf konstanter eingestellt werden kann (Omran et al. 2003; Montalescot et al. 2000).

In der EASE-Studie (Omran et al. 2003) wurde unfraktioniertes und niedermolekulares Heparin in der periinterventionellen Umstellung einer oralen Antikoagulation zur Durchführung einer Herzkatheteruntersuchung in Bezug auf die Effektivität der Antikoagulation verglichen. Periinterventionell wurde die orale Antikoagulation abgesetzt und der INR-Wert täglich gemessen. Sank der INR-Wert unter 2, so wurden die Patienten entweder mit gewichtsadaptiertem Enoxaparin (1 mg/kgKG; subkutan 2-mal täglich) oder mit APTT-gesteuertem, unfraktioniertem Heparin behandelt. Der Zielkorridor der Antikoagulation bei mit Enoxaparin behandelten Patienten lag bei 0,5–1,0 U/ml Anti-Faktor-Xa-Aktivität. Für unfraktioniertes Heparin entsprach der Zielkorridor dem 1,5- bis 2,5-fachen der regulären APTT. Die APTT, der INR und die Anti-Faktor-Xa-

◘ **Tab. 44.4.** Daten zu UFH in der Umstellung einer oralen Antikoagulation

| Studie | Patientanzahl | Kollektiv | Thromboembolie | Blutungen | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Gesamt | Groß | Klein |
| Katholi et al. 1978 | 39 | Mechanische Herzklappen | 0 | 3 | 1 | 2 |
| Mehra et al. 2000 | 20 | Oralchirurgie | 0 | 2 | 0 | 2 |
| Chakravarti u. MacDermott 1998 | 11 | Transurethrale Resektion | 0 | 4 | 4 | N. a. |

N. a. nicht angegeben

Aktivität wurden periinterventionell täglich gemessen. Bei inadäquaten APTT-Werten erfolgte eine Adjustierung der Dosis nach dem Ginsberg-Schema (Omran et al. 2003). Die Herzkatheteruntersuchung wurde bei einem INR <1,5 vorgenommen. Nach der Untersuchung wurde die orale Antikoagulation erneut eingeführt und die überlappende Antikoagulation mit unfraktioniertem oder niedermolekularem Heparin bis zum Erreichen eines INR >2 fortgeführt.

Insgesamt wurden 68 Patienten in die Studie aufgenommen. 32 Patienten erhielten niedermolekulares und 38 Patienten unfraktioniertes Heparin. Die Dauer bis zur Einstellung einer effektiven Antikoagulation war bei Patienten, die mit niedermolekularem Heparin behandelt wurden, signifikant kürzer als bei denen, die unfraktioniertes Heparin erhielten (1,1±0,4 versus 3,7±2,5 Tage; p=0,0001). Ferner waren mit niedermolekularem Heparin behandelte Patienten während des periinterventionellen Therapiezeitraums zuverlässiger antikoaguliert als Patienten mit unfraktioniertem Heparin. Eine effektive Antikoagulation unter unfraktioniertem Heparin wurde lediglich in etwa der Hälfte der Therapietage (54%) erreicht. Im Gegensatz dazu waren die mit niedermolekularem Heparin behandel-

**Tab. 44.5.** Daten zu NMH in der Umstellung einer oralen Antikoagulation

| Studie | NMH | Kollektiv | Anzahl | Thromboembolie | Blutungen | Große Blutungen | Kleinere Blutungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Spandorfer et al. 1999 | Enoxaparin | Mech. Herzklappen, Vorhofflimmern, Thrombophilie | 20 | 0 | 3 | 1 | 2 |
| Galla u. Fuhs 2000 | Enoxaparin | Mech. Herzklappen | 60 | 0 | 3 | N. a. | N. a. |
| Johnson u. Turpie 2001 | Enoxaparin | Mech. Herzklappen, Vorhofflimmern, Thrombophilie | 143 | 0 | 19 | 2 | 17 |
| Ferreira et al. 2003 | Enoxaparin | Mech. Herzklappen | 82 | 0 | 9 | 1 | 1 |
| Omran et al. 2005 | Enoxaparin | Mech. Herzklappen, Vorhofflimmern | 362 | 0 | 29 | 1 | 28 |
| Dunn et al. 2004 | Enoxaparin | Vorhofflimmern, Thrombophilie | 260 | 4 | N. a. | 9 | N. a. |
| Turpie u. Douketis 2004 | Enoxaparin | Mech. Herzklappen | 174 | 1 | N. a. | 4 | N. a. |
| Hammerstingl et al. 2004 | Enoxaparin | Mech. Herzklappen, Vorhofflimmern | 200 | 0 | 19 | 0 | 19 |
| Tinmouth et al. 2001 | Dalteparin | Mech. Herzklappen, Vorhofflimmern, Thrombophilie | 24 | 0 | 20 | 0 | 2 |
| Wilson 2001 | Dalteparin | Mech. Herzklappen, Vorhofflimmern, Thrombophilie, Herzinsuffizienz | 47 | 2 | 2 | 0 | 2 |
| Kovacs 2004 | Dalteparin | Mech. Herzklappen, Vorhofflimmern | 224 | 8 | N. a. | 15 | N. a. |
| Douketis 2004 | Dalteparin | Mech. Herzklappen, Vorhofflimmern, Thrombophilie | 650 | 2 | 38 | 6 | 32 |
| Baudo 2004 | Nadroparin Enoxaparin | Mech. Herzklappen, Vorhofflimmern, Thrombophilie, Herzinsuffizienz | 419 | 2 | 9 | 4 | 5 |
| Halbritter 2005 | Enoxaparin | Mech. Herzklappen, Vorhofflimmern, Thrombophilie | 286 | 3 | N. a. | 5 | N. a. |

N. a. nicht angegeben

ten Patienten an 93% der Tage in einem therapeutischen Antikoagulationsbereich.

In einer prospektiven Observationsstudie haben Montalescot und Mitarbeiter (2000) ähnliche Ergebnisse in Bezug auf die Effektivität der postoperativen gerinnungshemmenden Therapie nach Herzklappenersatz erhoben. Es wurden 208 konsekutive Patienten in die Studie eingeschlossen (UFH: n=106; NMH: n=102). Die Ereignisrate embolischer Komplikationen war in beiden Gruppen mit unter 1% sehr gering. Relevante Blutungen traten mit weniger als 3% auf. Interessanterweise konnte eine effektive Antikoagulation unter niedermolekularem Heparin in 88% der Fälle innerhalb von 2 Tagen erreicht werden. Im Gegensatz dazu waren zeitgleich lediglich 20% der mit unfraktioniertem Heparin behandelten Patienten effektiv antikoaguliert. Die Autoren zogen daraus den Schluss, dass die postoperative Einstellung der Antikoagulation mit unfraktioniertem Heparin nur unzureichend möglich ist.

Eine weitere interessante Beobachtung der Studie war, dass am Ende der Einstellungsphase der oralen Antikoagulation bis zu 50% der mit unfraktioniertem Heparin behandelten Patienten oberhalb des therapeutischen Antikoagulationsbereichs lagen. Im Gegensatz dazu lagen mit NMH behandelte Patienten in mehr als 90% der Fälle im korrekten Antikoagulationsbereich.

Neben diesen Studien gibt es zum Bridging eine Vielzahl von Registerdaten mit unterschiedlichen niedermolekularen Heparinen. In der nachfolgenden Tabelle sind die derzeit veröffentlichten Registerdaten zusammengefasst.

Insgesamt liegt die Rate thromboembolischer Ereignisse während einer Überbrückungstherapie mit niedermolekularen Heparinen bei <1% und die Rate größerer Blutungen beträgt in Abhängigkeit von der Operation im Mittel ungefähr 1% (0–7%). Die Daten unserer Bonner Arbeitsgruppe bestätigen diese Erfahrungen.

In das prospektive BRAVE-Register (Bonn Registry for Alternative Anticoagulation to Prevent Vascular Events) wurden bislang 790 Patienten eingeschlossen (Omran et al. 2007). Erstmalig erfolgte in einem prospektiven Register die Therapie mit NMH in einer dem individuellen Thromboembolierisiko angepassten NMH-Dosierung: Patienten mit mechanischem Herzklappenersatz und Patienten mit Vorhofflimmern und hohem thromboembolischem Risiko wurden mit einer therapeutischen Dosierung von Enoxaparin (1 mg/kgKG 2-mal täglich) behandelt, die Patienten mit Vorhofflimmern und intermediärem Thromboembolierisiko wurden mit einer halbtherapeutischen Dosis behandelt. Abhängig vom periinterventionellen Blutungsrisiko wurde nach dem Eingriff die gerinnungshemmende Therapie ausgesetzt bzw. die Dosis adjustiert, eine therapeutische Antikoagulation wurde bei stabilen Wundverhältnissen wieder aufgenommen (Abb. 44.2). Nach Eingriffen mit einem hohen Blutungsrisiko wird die effektive Antikoagulation für 48 Stunden unterbrochen, sollte es in-

| | TE-Risiko | Dosierung | |
|---|---|---|---|
| Z.B.<br>▪ Künstlicher Herzklappenersatz<br>▪ frische Thrombose<br>▪ Vorhofflimmern und<br>▪ Z.n. Embolie<br>▪ oder LAA-Thrombus/SEC<br>▪ oder Herzinsuffizienz | Hoch | Therapeutisch | peri-OP- adaptiert |
| **Vorhofflimmern** plus<br>▪ Alter > 75 ohne RF<br>▪ oder Alter < 75 plus Diabetes<br>▪ oder Alter < 75 plus arterielle Hypertonie | Intermediär | Halbtherapeutisch | peri-OP- adaptiert |
| | Blutungsrisiko | Nicht hoch | Hoch |
| | | • Eingriffe, die nicht o.g. Interventionen zuzuordnen sind<br>• nicht chirurgische Interventionen inkl.<br>• Herzkatheteruntersuchung<br>• Endoskopie<br>• Bronchoskopie<br>• Arthroskopie | • Herzchirurgische Eingriffe<br>• Chirurgie großer Gefäße<br>• Neurochirurgie<br>• große tumorchirurgische Eingriffe<br>• Operation an Niere/ Prostata |

**Abb. 44.2.** Bridging-Schema des BRAVE-Registers. *LAA* Left atrial appendage; *SEC* »spontaneous echo contrast«; *RF* Risikofaktor; *TE* Thromboembolie

traoperativ zu unkontrollierten Blutungen kommen, wird die gerinnungshemmende Therapie so lange pausiert, bis eine gesicherte Hämostase erreicht ist. Nach Interventionen mit geringem Blutungsrisiko werden die Bridging-Therapie und die orale Antikoagulation bereits am Abend des Eingriffs wieder aufgenommen.

Die Inzidenz klinisch apparenter Thromboembolien und die Sicherheit der Therapie wurden über 30 Tage beobachtet. Bei 3 Patienten traten 4 große Blutungen auf (0,5%). Betroffen war ein Patient mit einem falschen Aneurysma nach Brachialarterienpunktion (keine Bluttransfusion erforderlich). Eine Patientin mit Vorhofflimmern erlitt 2 größere Blutungen, die mit einer Bluttransfusion behandelt wurden. Ein dritter Patient mit Vorhofflimmern wurde nach abdomineller Blutung über 3 Tage auf der Intensivstation überwacht und mit 2 Bluttransfusionen behandelt. Keiner der Patienten hatte ein thromboembolisches Ereignis. Bei einem Patienten wurde eine Thrombozytopenie beobachtet. Eine fortgesetzte ambulante Therapie war in 24% der Fälle möglich. Die Ergebnisse unseres Registers zeigen, dass eine risikoadaptierte Therapie mit niedermolekularen Heparinen eine sichere Überbrückungstherapie zulässt (Omran et al. 2007).

## Literatur


ACC/AHA/ESC (American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines) (2006) Corrigendun to ACC/AHA/ESC 2006 guidelines for the management of patients with atrial fibrillation. Europace 8: 651–754

Baudo F, Mostarda G, Ghirarduzzi A, Molinatti M, Pengo V, Poli D, Tosetto A, Tiraferri E, Morra E (2004) Low molecular weight heparin during surgery in patients on long term oral anticoagulant treatment (OAT): A prospective observational study. Blood 104: abstract 4063

Bauersachs RM, Schellong S, Haas S, Gogarten W, Riess H, Omran H (2007) Überbrückung der oralen Antikoagulation bei interventionellen Eingriffen (Perioperative Bridging of Oral Anticoagulation Therapy). Dtsch Ärztebl 104(18): A-1237 / B-1101 / C-1053

Chakravarti A, MacDermott S (1998) Transurethral resection of the prostate in the anticoagulated patient. Br J Urol 81: 520–522

Douketis JD, Johnson JA, Turpie AG (2004) Low-molecular-weight heparin as bridging anticoagulation during interruption of warfarin: assessment of a standardized periprocedural anticoagulation regimen. Arch Intern Med 164: 1319–1326

Dunn A, Spyropoulos A, Sirko S, Turpie A (2004) Perioperative bridging therapy with enoxaparin in patients requiring interruption of long term anticoagulant therapy: a multicentre cohort study. Blood 104: abstract 1761

Dunn, AS, Turpie AGG (2003) Perioperative management of patients receiving oral anticoagulants: A systematic review. Arch Intern Med 163: 901–908

Ferreira I, Dos L, Tornos P, Nicolau I, Permanyer-Miralda G, Soler-Soler J (2003) Experience with enoxaparin in patients with mechanical heart valves who must withhold acenocumarol. Heart 89: 527–530

Gage FG, Waterman AD, Shannon AD, Boechler M, Rich MW, Radford MJ (2001) Validation of clinical classification schemes for predicting stroke. JAMA 285: 2864–2870

European Atrial Fibrillation Trial Study Group (1993) Secondary prevention in non-rheumatic atrial fibrillation after transient ischemic attack or minor stroke. Lancet 342: 1255–1262

Galla J, Fuhs B (2000) Outpatient anticoagulation protocol for mechanical valve recipients undergoing non-cardiac surgery. J Am Coll Cardiol 35: 531A 1114–1164

Eisen GM, Baron TH, Dominitz JA et al. (2002) Guideline on the Management of Anti-coagulation and Anti-platelet Therapy for Endoscopic Procedures. Gastrointest Endosc 2002;55:775-779

Gohlke-Bärwolf C (2000) Valve disease: Anticoagulation in valvular heart disease: new aspects and management during non-cardiac surgery. Heart 84: 567–57

Gohlke-Bärwolf C, Acar J, Oakley C et al. (1995) Guidelines for prevention of thromboembolic events in valvular heart disease. Study Group of the working group on valvular heart disease of the European Society of Cardiology. Eur Heart J 16: 1320–1330

Halbritter KM, Wawer A, Beyer J, Oettler W, Schellong SM (2005) Bridging anticoagulation for patients on long-term vitamin K antagonists. A prospective 1 year registry of 311 episodes. J Thromb Haemost 3: 2823–2825

Hammerstingl C, Schlang G, Bernhardt P, Schmidt H, Omran H (2004) Einsetzbarkeit niedermolekularer Heparine bei Umstellung einer oralen Antikoagulation vor Interventionen mit erhöhtem Blutungsrisiko: Das »Bonn-Register« – Erfahrungen mit 200 Patienten. Z Kardiol 93 (Supplement): 281–282

Hart R, Pearce L A, Aguilar MI (2007) Meta-analysis: Antithrombotic Therapy to Prevent Stroke in Patients Who Have Nonvalvular Atrial Fibrillation. Ann Intern Med 146: 857–867

Hirsh J, Warkentin TE, Shaughnessy SG, Anand SS, Halperin JL, Raschke R (2001) Heparin and low-molecular-weight heparin: mechanisms of action, pharmacokinetics, dosing, monitoring, efficacy, and safety. Chest 119: 64S–94S

Ickx BE, Steib A (2006) Perioperative management of patients receiving vitamin K antagonists. Can Anesth 53: S113

Johnson JA, Turpie AG (2001) Temporary discontinuation of oral anticoagulants: role of low molecular weight heparin. Thromb Haemost 85: P2323

Katholi RE, Nolan SP, McGuire LB (1978) The management of anticoagulation during noncardiac operations in patients with prosthetic heart valves. A prospective study. Am Heart J 96: 163–165

Kovacs MJ, Kearon C, Rodger M et al. (2004) Single-arm study of bridging therapy with low-molecular-weight heparin for patients at risk of arterial embolism who require temporary interruption of warfarin. Circulation 110: 1658–1663

Madura JA, Rookstool M, Wease G (1994) The management of patients on chronic coumadin therapy undergoing subsequent surgical procedures. Am Surg 60: 542–546

McCormack P, Simcock PR, Tullo AB (1993) Management of the anticoagulated patient for ophthalmic surgery. Eye 7(Pt 6): 749–50

Mehra P, Cottrell DA, Bestgen SC, Booth DF (2000) Management of heparin therapy in the high-risk, chronically anticoagulated, oral surgery patient: a review and a proposed nomogram. J Oral Maxillofac Surg 58: 198–202

Montalescot G, Polle V, Collet JP, Leprince P, Bellanger A, Gandjbakhch I, Thomas D (2000) Low molecular weight heparin after mechanical heart valve replacement. Circulation 101: 1083–1086

Omran H, Hammerstingl C, Paar WD; Bonn Registry of Alternative Anticoagulation to Prevent Vascular Events (2007) Perioperative Bridging with Enoxaparin. Results of the Prospective BRAVE Registry with 779 Patients. Med Klin 102(10): 809–15

Omran H, Hammerstingl C, Schmidt H, Lüderitz B (2005) Periinterventionelles Management bei oral antikoagulierten Patienten. Hämostaseologie 25: Abstract L6

Omran H, Hammerstingl C, Schmidt H, von der Recke D, Paar WD, Lüderitz B (2003) A prospective and randomized comparison of the safety and effects of therapeutic levels of enoxaparin versus unfractionated heparin in chronically anticoagulated patients undergoing elective cardiac catheterization. Thromb Haemost 90: 267–271

Otley CC, Fewkes JL, Frank W, Olbricht SM (1996) Complications of cutaneous surgery in patients who are taking warfarin, aspirin, or nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Archives of dermatology 132(2): 161–166

*Singer DE, Albers GW, Dalen JE, Go AS, Halperin JL, Manning WJ (*2004*)* Antithrombotic therapy in atrial fibrillation: The Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. Chest 126 (3Suppl): 429S–456S

Spandorfer JM, Lynch S, Weitz HH, Fertel S, Merli GJ (1999) Use of enoxaparin for the chronically anticoagulated patient before and after procedures. Am J Cardiol 84: 478–480, A10

Spyropoulus AC, Turpie AGG, Dunn AS, Spandorfer J, Douketis J, Jacobson A, Frost FJ for the REGIMEN Investigators (2006) Clinical outcomes with unfractionated heparin or low-molecular-weight heparin as bridging therapy in patients on long-term oral anticoagulants: the REGIMEN registry. J Thromb Haemost 4: 1246–1252

Spyropoulos AC, Frost FJ, Hurley JS, Roberts M (2004) Costs and clinical outcomes associated with low-molecular-weight heparin vs unfractionated heparin for perioperative bridging in patients receiving long-term oral anticoagulant therapy. Chest 125: 1642–1650

Tinmouth AH, Morrow BH, Cruickshank MK, Moore PM, Kovacs MJ (2001) Dalteparin as periprocedure anticoagulation for patients on warfarin and at high risk of thrombosis. Ann Pharmacother 35: 669–674

Turpie AG, Douketis J (2004) Enoxaparin is effective and safe as bridging anticoagulation in patients with a mechanical prosthetic heart valve who require temporary interruption of warfarin because of surgery or an invasive procedure. Blood 104: abstract 703

Wahl MJ (1998) Dental surgery in anticoagulated patients. Arch Intern Med 158: 1610–6

Wilson S, Morgan J, Gray L, Newman V, Anderson D (2001) A model for perioperative outpatient management of anticoagulation in high risk patients: an evaluation of effectiveness and safety. Can J Hosp Pharm 54: 269–277

# 45 Stent und Operation

*T. Geisler, M. Gawaz*

## Einleitung

Etwa 5% der Patienten, die eine koronare Stentimplantation erhalten, benötigen eine nicht kardiale Operation innerhalb eines Jahres. Im periinterventionellen Hämostasemanagement muss das iatrogene Blutungsrisiko durch die thrombozytenfunktionshemmende Therapie gegenüber dem Risiko einer Stentthrombose abgewogen werden. Ein evaluiertes Bridging-Protokoll ist nicht verfügbar. Im Einzelfall ist das Vorgehen von dem operativen Blutungsrisiko und der individuellen kardialen Gefährdung abhängig.

## 45.1 Klinische Problematik

Etwa 5% der Patienten, die eine koronare Stentimplantation erhalten, benötigen eine nicht kardiale Operation innerhalb eines Jahres [1]. Die Implantation von intrakoronaren Stents resultiert in einer lokalen und auch systemisch messbaren Thrombozytenaktivierung [2]. Ebenso führen sowohl kardiale als auch nicht kardiale operative Eingriffe zur einem prothrombotischen Zustand mit einer bedeutenden Endothel- und Thrombozytenaktivierung mit erhöhter Thrombingenerierung und reduzierter Fibrinolyse [3]. Daher ist das Risiko für Thrombosen im Bereich noch nicht endothelialisierter Stents in der perioperativen Phase wesentlich erhöht. Das stellt die interdisziplinäre Medizin vor folgende Herausforderungen:

- Zum einen sind Patienten mit symptomatischer koronarer Herzerkrankung und mehrfachen kardiovaskulären Risikofaktoren, bei denen präoperativ die koronare Vaskularisierung nicht optimiert wird, gefährdet für perioperative artherothrombotische Komplikationen.
- Zum anderen zeigen aber gerade Patienten, die präoperativ einen Stent erhalten haben, ein erhöhtes Risiko für eine Stentthrombose in der perioperativen Phase.

Aus diesem Grund ist eine exakte Planung zwischen interventioneller und operativer Medizin mit Einschätzung des individuellen Risikos in Relation zur Art des geplanten operativen Eingriffs mit dem Ziel der Risikoreduktion von Stentthrombosen auf der einen und Vermeidung von schwerwiegenden perioperativen Blutungskomplikationen auf der anderen Seite unumgänglich. Die Inzidenz perioperativer Ereignisse (kardiovaskulärer Tod und nicht tödlicher Myokardinfarkt) in Abhängigkeit von der Art des Eingriffs sind in der Übersicht dargestellt [22].

In Einzelfällen muss der Nutzen einer revaskularisierenden Therapie zur Senkung des perioperativen Risikos für kardiale Ischämien gegen die revaskularisationsbedingte Verzögerung der Operation abgewogen werden.

Die Bedeutung einer koronaren Revaskularisierung konnte initial durch eine Reduktion des absoluten Risikos um 7,9% für nicht tödliche Myokardinfarkte bei Patienten, die im Vorfeld einer geplanten Gefäßoperation eine aortokoronare Bypassversorgung erhielten, nahegelegt werden [4]. Mit den Ergebnissen einer Datenbankanalyse (Medicare Database) konnte dieselbe Arbeitsgruppe zeigen, dass eine koronare Intervention das Mortalitätrisiko innerhalb eines Jahres bei aortalen Operationen senken kann [5]. In einer weiteren Studie, in der die Ereignisrate zwischen Patienten mit operativer und interventioneller Revaskularisierung (Ballonangioplastie) verglichen wurde, zeigte sich, dass eine interventionelle der operativen Strategie bezüglich der Reduktion postoperativer ischämischer Komplikationen nicht unterlegen ist [6].

Bisher wurden 2 randomisierte Studien durchgeführt, um den Einfluss einer prophylaktischen koronaren Revaskularisierung zu überprüfen. In der CARP-Studie (Coronary Artery Revascularization Prophylaxis Study) wurden überwiegend Patienten mit stabiler koronarer 1-

**Inzidenz perioperativer Ereignisse (kardiovaskulärer Tod und nicht tödlicher Myokardinfarkt)**

- **Hohes Risiko (≥5%)**
  - Notfalloperation besonders bei älteren Patienten
  - Operationen an der Aorta und periphere gefäßchirurgische Eingriffe
  - ausgedehnte Operationen mit großen Volumenverschiebungen
- **mittleres Risiko (≥1%, <5%)**
  - intraperitoneale und intrathorakale Eingriffe
  - Karotisthrombendartherektomie
  - Hals-Nasen-Ohren-Operationen
  - orthopädische Eingriffe
  - Operationen an der Prostata, gynäkologische Eingriffe
- **geringes Risiko (<1%)**
  - endoskopische Interventionen
  - oberflächliche Biopsien
  - Augenoperationen (z. B. Kataraktoperationen)
  - Brustoperationen

und 2-Gefäßerkrankung randomisiert auf eine konservativ medikamentöse Therapie gegen eine prophylaktische interventionelle (perkutane transluminale koronare Angioplastie, PTCA) bzw. operative Myokardrevaskularisierung [7]. Insgesamt wurden 510 Patienten mit geplanten gefäßchirurgischen Eingriffen eingeschlossen. Diese Studie konnte lediglich die Sicherheit der präoperativen Revaskularisierung belegen, jedoch keine Prognoseverbesserung hierdurch (mediane Nachverfolgungszeit 2,7 Jahre; Mortalität der Gruppe mit prophylaktischer Revaskularisierung 22% vs. 23% im medikamentösen Behandlungsarm, p=0,92).

In der DECREASE-V-Studie, in der hauptsächlich Patienten mit stabiler koronarer 3-Gefäßerkrankung eingeschlossen wurden, konnte ebenfalls kein günstiger Effekt einer interventionellen Revaskularisierung auf die weitere Prognose nachgewiesen werden [8].

In einer initialen Studie, in der ausschließlich Patienten mit Stentimplantation eingeschlossen wurden, konnte ein wesentlicher Einfluss des zeitlichen Abstandes zwischen Intervention (Stent) und Operation beobachtet werden. Die Mortalität lag mit 32% bei Patienten, die innerhalb von 12 Tagen nach Intervention operiert wurden wesentlich höher, als bei Patienten mit Operationstermin nach 12 bis 30 Tagen (0%) [9]. Dabei gehörten bei Unterbrechung der antithrombozytären Therapie Stentthrombosen zu den häufigsten kardialen Todesursachen.

In nachfolgenden Studien zeigten sich weitere Hinweise für einen Zusammenhang des Zeitintervalls von Stentimplantation zur Operation und dem Auftreten perioperativer koronarischämischer Komplikationen [1, 10]. In der Studie von Vicenzi und Mitarbeitern wurde ein 2,1-fach höheres Risiko einer kardialen Komplikation beobachtet bei Stentimplantation <35 Tage verglichen mit >90 Tagen vor einem nicht kardiochirurgischen Eingriff [1].

**! Somit liegt nahe, dass die Wahl des optimalen Zeitpunkts zwischen Stentimplantation und Operation eine wesentliche Bedeutung hat. Ein zu früher Zeitpunkt der Operation geht mit einer erhöhten Rate thromboischämischer Ereignisse insbesondere Stentthrombosen einher, wohingegen mit zunehmendem zeitlichen Abstand das Risiko einer Restenose und damit das Risiko perioperativer ischämischer Ereignisse steigt.**

Dabei ist die Inzidenz von Stentthrombosen nach Implantation unbeschichteter Stents vorwiegend in den ersten 2 Wochen und selten später als 4 Wochen beschrieben worden [10, 12]. In den diesbezüglichen Leitlinien der amerikanischen Gesellschaft für Kardiologie (ACC/AHA) findet sich daher die Empfehlung, elektive Operationen möglichst nach einem Zeitraum von 4 Wochen nach Implantation unbeschichteter Stents (»Bare-metal«-Stents) durchzuführen [13].

Da die Inzidenz später Stentthrombosen nach Implantation medikamentenbeschichteter Stents aufgrund der verzögerten Endothelialisierung erhöht ist, ist für einen längeren Zeitraum (bis zu 12 Monate) nach Intervention mit einem hohen Risiko für perioperative Stentthrombosen zu rechnen [14]. Deshalb und auch aufgrund der aktuellen Empfehlungen einer Mindestdauer der dualen antithrombozytären Therapie (Aspirin und Clopidogrel) von mindestens 6, optimal 12 Monaten nach Implantation von »drug eluting«-Stents, sollten elektive Operationen nach diesem Zeitraum durchgeführt werden.

Umgekehrt sind bei früher geplanten Operationen eher unbeschichtete Stents zu bevorzugen. Bei dringlichen Operationen und Patienten mit stabiler koronarer Herzerkrankung sollte eine PTCA bzw. optimale perioperative medikamentöse Therapie in Erwägung gezogen werden, mit Stentversorgung im ausreichenden postoperativen Intervall.

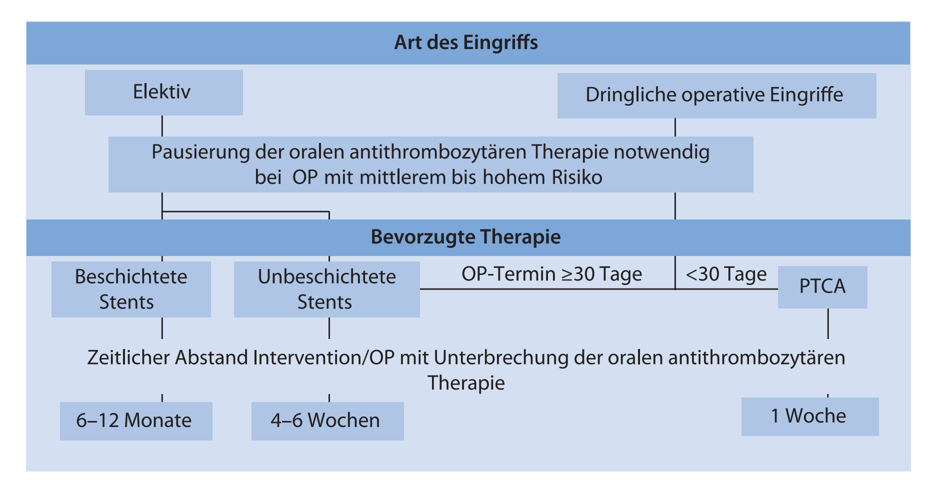



**Abb. 45.1.** Schema zur Planung der koronaren Intervention in Abhängigkeit vom geplanten operativen Eingriff

**Tab. 45.1.** Derzeit im klinischen Einsatz befindliche antithrombozytäre Substanzen zur Begleittherapie bei koronarer Stentimplantation

| Substanz | Wirkmechanismus | Plasmahalbwertszeit | Wirkungsdauer |
|---|---|---|---|
| Acetylsalicylsäure | Hemmung der Cyklooxygenase aller Körperzellen | 15 min | 5–7 Tage |
| Thienopyridine | Kompetitive Hemmung des ADP-($P2Y_{12}$-)Rezeptors auf Thrombozyten | | 5–7 Tage |
| – Ticlopidin | | 24 h | |
| – Clopidogrel | | 8 h | |
| Glykoprotein-IIb-IIIa-Inhibitoren | Blockade des Fibrinogenrezeptors | | |
| Abciximab (ReoPro®) | Monoklonales Antikörperfragment mit hoher Affinität, langsam reversibel, unspezifische Rezeptorbindung | 30 min | 24–48 h |
| – Tirofiban (Aggrastat®) | Synthetisches Nichtpeptid, niedrige Affinität, schnell reversibel, hohe GP-IIb-IIIa-Spezifität | 90 min | 4–8 h |
| – Eptifibatide (Integrilin®) | Zyklisches Heptapeptid, niedrige Affinität, schnell reversibel, hohe GP-IIb-IIIa-Spezifität | 150 min | 2–4 h |

Anders ist sicherlich der Benefit einer präoperativen Revaskularisierung bei kardial instabilen Patienten (kardiogener Schock, instabile Angina pectoris, Hauptstammstenosen) zu bewerten. Hierzu gibt es in der Literatur bisher nur Einzelberichte.

## 45.2 Antithrombozytäre Therapie

Das Ziel der antithrombozytären Therapie in der perioperativen Phase ist es, das Risiko für koronare Ischämien, insbesondere für Stentthrombosen, zu reduzieren, ohne das Risiko für schwerwiegende Blutungen wesentlich zu erhöhen. Eingesetzte Thrombozytenfunktionshemmer sind in Tab. 45.1 zusammengefasst. Derzeit gibt es wenig valide Daten aus randomisierten klinischen Studien.

### 45.2.1 Einsatz von Thrombozytenaggregationshemmern in der perioperativen Phase

**Acetylsalicylsäure.** ASS hemmt die Zyklooxygenase irreversibel, sodass die Funktionsfähigkeit der Thrombozyten von ihrer Neubildung abhängt. Bei physiologischer Knochenmarkfunktion werden etwa 10% der Thrombozyten pro Tag ersetzt, d. h. 5–7 Tage nach Absetzen von ASS weisen etwa 50% der Thrombozyten eine normale Funktion auf. Ergebnisse aus Metaanalysen weisen darauf hin, dass zumindest eine niedrig dosierte ASS-Therapie das Risiko für schwerwiegende perioperative Blutungen nicht erhöht [15]. Bei koronaren Bypasspatienten konnte sogar durch perioperative ASS-Gabe die Mortalität von 4 auf 1,3% gesenkt werden [16]. Auch ist das Risiko für Blutungskomplikationen bei Spinal- und Epiduralanästhesie unter niedrig dosierter ASS-Therapie nicht erhöht [17].

**! Die ASS-Therapie stellt daher an sich keine Kontraindikation für chirurgische Eingriffe dar.**

**Thienopyridine (Clopidogrel).** Clopidogrel hemmt irreversibel den ADP-($P2Y_{12}$-)Rezeptor auf Thrombozyten und kann weit über seine Plasmahalbwertszeit hinaus eine relevante Thrombozyteninhibierung bewirken. Etwa 5–7 Tage nach Pausierung wird eine Funktionstüchtigkeit von 50% der Thrombozyten wiedererlangt. In bisherigen Studien ist ein Zusammenhang zwischen dem perioperativen Einsatz von Thienopyridinen und einem erhöhten Blutungsrisiko beschrieben worden. In kleineren Studien, in denen Patienten innerhalb von 7 Tagen vor aortokoronarer Bypass Operation (ACB-Operation) Clopidogrel einnahmen, zeigte sich eine erhöhte Transfusionsrate und die Notwendigkeit erneuter chirurgischer Eingriffe zur Blutungskontrolle [18].

In einer größeren Studie an insgesamt 2.359 Patienten zeigte sich in der Gruppe, die mit Clopidogrel innerhalb von 7 Tagen vor ACB-Operation behandelt wurden (n=415), ein 2- bis 3-fach erhöhtes Risiko für eine notwendige Transfusion von Thrombozyten- oder Erythrozytenkonzentraten und ein 5-fach höheres Risiko für erneute operative Eingriffe zur Blutungskontrolle [19]. In einer anderen Studie an kardiochirurgischen Patienten, die mittels »Off-pump«-Technik operiert wurden, bestätigte sich nach Anpassung von relevanten Einflussfaktoren ein bis zu 5-fach erhöhtes Blutungsrisiko, ohne dass eine

signfikante Mortalitätsreduktion beobachtet werden konnte [20].

**GP-IIb-IIIa-Inhibitoren.** In der perioperativen Phase sollten nur kurzwirksame GP-IIb-IIIa-Inhibitoren (Eptifibatide, Tirofiban) zum Einsatz kommen. Abciximab führt zu einer Thrombozyteninhibierung weit über seine Plasmahalbwertszeit hinaus und sollte daher frühzeitig vor einer geplanten Operation pausiert werden.

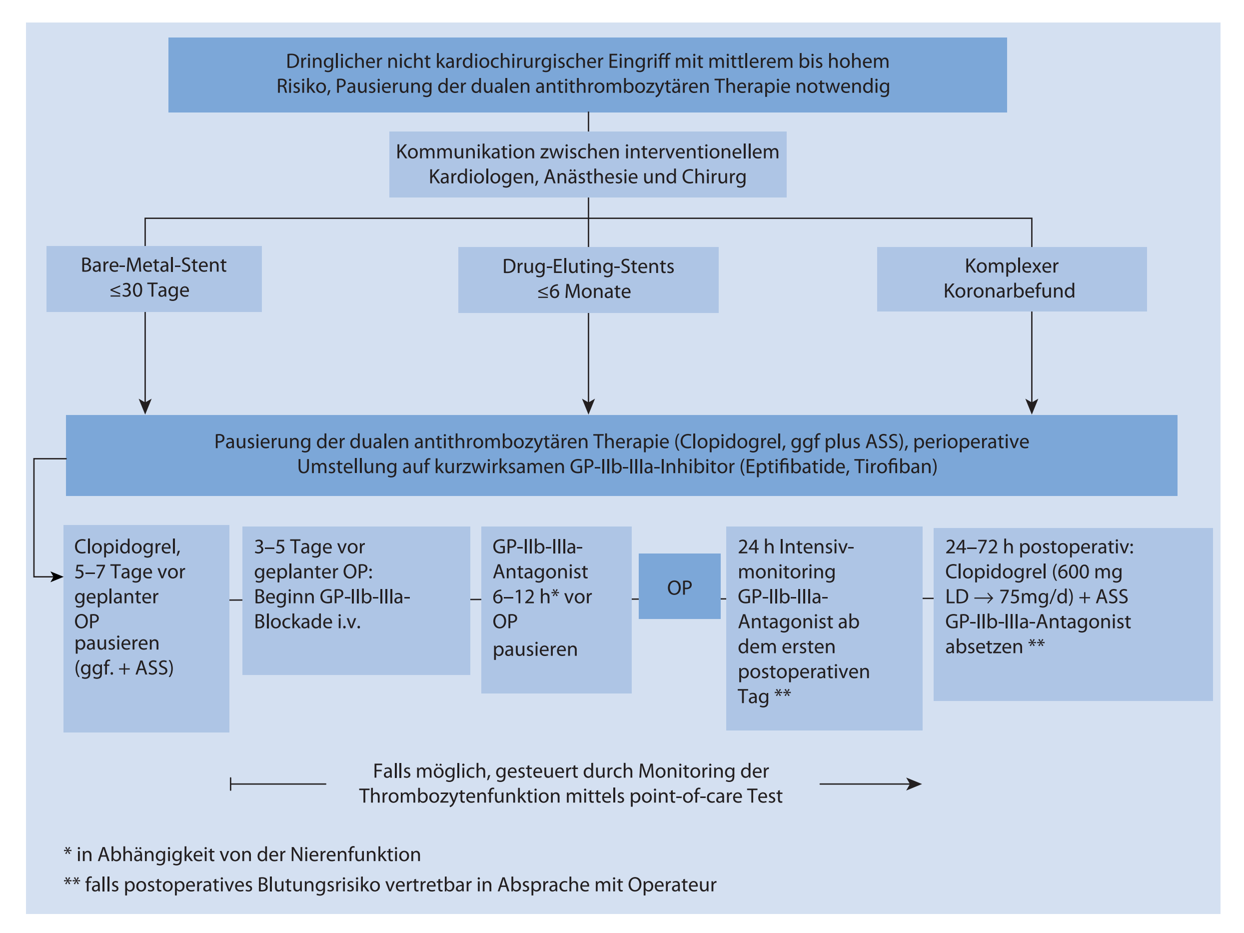
Die Bedeutung der perioperativen antithrombozytären Therapie zur Prophylaxe von Stentthrombosen ist umso wichtiger, je kürzer die Stentimplantation zurückliegt [21]. Daher sollte die duale antithrombozytäre Therapie bei weniger als 4 Wochen zurückliegender Implantation von »Bare-metal«-Stents und 6 Monaten nach Implantation von »Drug-eluting«-Stents in der perioperativen Phase auf eine Behandlung mit kurzwirksamen GP-IIb-IIIa-Inhibitoren umgestellt werden (Aggrastat, Eptifibatide) und im Anschluss an die Operation nach Ausschluss von Blutungskomplikationen die orale antithrombozytäre Therapie fortgesetzt werden (◘ Abb. 45.2).

**Heparine.** Eine perioperative Umstellung auf Heparine bei Patienten mit koronaren Stents bietet keinen ausreichenden Schutz vor Stentthrombosen und sollte daher keine alleinige Alternative zur antithrombozytären Therapie darstellen.

**Antagonisierung.** Bei Auftreten einer relevanten Blutung unter der antithrombozytären Therapie mit ASS besteht als Behandlungsoption die Gabe des synthetischen Vasopressinanalogons DDAVP (Minirin; ▶ Kap. 50.1).

Zur Prophylaxe einer erhöhten intraoperativen Blutungsneigung unter Einwirkung von Thrombozytenaggregationshemmern, insbesondere von Clopidogrel, können Thromboyztenkonzentrate verabreicht werden. Das Risiko einer Stentthrombose ist hierunter jedoch prinzipiell erhöht, bei diesen Patienten sollte ein intensives perioperatives Monitoring erfolgen.

»Point-of-Care«-Tests (Aggregometrie, Thrombelastographie) kommen zunehmend zur Beurteilung der perioperativen Thrombozytenfunktion und damit zur Einschätzung des Risikos sowohl für thrombotische als auch für Blutungskomplikationen zum Einsatz.




◘ **Abb. 45.2.** Schema zur perioperativen Umstellung der oralen antithrombozytären Therapie. *LD* »loding dose«; *NSTEMI* Nicht-ST-Hebungs-Infarkt; *STEMI* ST-Hebungs-Infarkt

## Literatur

[1] Vicenzi MN, MeislitzerT, Heitzinger B et al. (2006) Coronary artery stenting and non-cardiac surgery – a prospective outcome study. Br J Anaesth 96(6): 686–693

[2] Gawaz M, Neumann FJ, Ott I, May A, Schomig A (1996) Platelet activation and coronary stent implantation. Effect of antithrombotic therapy. Circulation 94(3): 279–85

[3] Ikeda M, Iwamoto S, Imamura H, Furukawa H, Kawasaki T (2003) Increased platelet aggregation and production of platelet-derived microparticles after surgery for upper gastrointestinal malignancy. J Surg Res 115(2): 174–83

[4] Eagle KA, Rihal CS, Mickel MC et al. (1997) Cardiac risk of noncardiac surgery: influence of coronary disease and type of surgery in 3368 operations. CASS Investigators and University of Michigan Heart Care Program. Coronary Artery Surgery Study. Circulation 96(6): 1882–1887

[5] Fleischer LA, Eagle KA, Schaffer T, Anderson GF (1999) Perioperative and long-term mortality rates after major vascular surgery: the relationship to preoperative testing in the Medicare Population. Anesth Analg 89: 849–55

[6] Hassan SA, Hlatky MA, Boothroyd DB et al. (2001) Outcomes of noncardiac surgery afer coronary bypass surgery or coronary angioplasty in the Bypass Angioplasty Revascularization Investigation (BARI). Am J Med 110(4): 260–266

[7] McFalls EO, Ward HB, Moritz TE et al. (2004) Coronary-artery revascularization before elective major vascular surgery. N Engl J Med 351(27): 2795–2804

[8] Poldermans D, Schouten O, Vidakovic R et al.; DECREASE Study Group (2007) A clinical randomized trial to evaluate the safety of a noninvasive approach in high-risk patients undergoing major vascular surgery: the DECREASE-V Pilot Study. J Am Coll Cardiol 49(17): 1763–9

[9] Kaluza GL, Joseph J, Lee JR, Raizner ME, Raizner AE (2000) Catastrophic outcomes of noncardiac surgery soon after coronary stenting. J Am Coll Cardiol 35: 1288–94.

[10] Wilson SH, Fasseas P, Orford JL et al. (2003) Clinical outcome of patients undergoing non-cardiac surgery in the two months following coronary stenting. J Am Coll Cardiol 42(2): 234–240

[11] Wilson SH, Rihal CS, Bell MR, Velianou JL, Holmes DR Jr, Berger PB (1999) Timing of coronary stent thrombosis in patients treated with ticlopidine and aspirin. Am J Cardiol 83: 1006–11

[12] Berger PB, Bell MR, Hasdai D, Grill DE, Melby S, Holmes DR Jr (1999) Safety and efficacy of ticlopidine for only 2 weeks after successful intracoronary stent placement. Circulation 99: 248–53

[13] Eagle KA, Berger PB, Calkins H et al. (2002) ACC/AHA guideline update for perioperative cardiovascular evaluation for noncardiac surgery – executive summary. J Am Coll Cardiol 39: 542–53

[14] Auer J, Berent R, Weber T, Eber B (2004 Risk of noncardiac surgery in the months following placement of a drug-eluting coronary stent. J Am Coll Cardiol 43: 713

[15] Burger W, Chemnitius JM, Kneissl GD, Rucker G (2005) Low-dose aspirin for secondary cardiovascular prevention – cardiovascular risks after its perioperative withdrawal versus bleeding risks with its continuation – review and meta-analysis. J Intern Med 257(5): 399–414

[16] Mangano DT (2002) Aspirin and mortality from coronary bypass surgery. N Engl J Med 347: 1309–17

[17] Gogarten W, Van Aken H, Büttner J et al. (2003) Rückenmarksnahe Regionalanästhesie und Thromboembolieprophylaxe/ antithrombotische Medikation. Anästh Intensivmedizin 44: 218–230

[18] Yende S, Wunderink RG (2001) Effect of clopidogrel on bleeding after coronary artery bypass surgery. Crit Care Med 29: 2271–2275

[19] Kapetanakis EI, Medlam DA, Boyce SW, Haile E, Hill PC, Dullum MK, Bafi AS, Petro KR, Corso PJ (2005) Clopidogrel administration prior to coronary artery bypass grafting surgery: the cardiologist’s panacea or the surgeon’s headache? Eur Heart J 26: 576 –583

[20] Kapetanakis EI, Medlam DA, Petro KR, Haile E, Hill PC, Dullum MKC, Bafi AS, Boyce SW, Corso PJ (2006) Effect of clopidogrel premedication in off-pump cardiac surgery: are we forfeiting the benefits of reduced hemorrhagic sequelae? Circulation 113: 1667–1674

[21] Schouten O, Van Domburg RT, Bax JJ et al. (2006) Noncardiac surgery after coronary stenting; early surgery and interruption of antiplatelet therapy are associated with an Increase in Major Adverse Cardiac Events. Circulation 114(18): II–731

[22] Eagle KA, Berger PB et al. (2002) ACC/AHA guideline update for perioperative cardiovascular evaluation for noncardiac surgery-executive summary. J Am Coll Cardiol 39(3): 542–553

# 46 Überempfindlichkeits- und allergische Reaktionen auf hämostaseologisch wirksame Medikamente

*K. Scherer, D. A. Tsakiris, A. J. Bircher*

## Einleitung

Hämostaseologisch wirksame Medikamente gehören zu sehr unterschiedlichen Substanzgruppen. Diese umfassen z. B. die Heparine, Cumarinderivate, direkte Thrombininhibitoren, Plättchenaggregationshemmer, Dextrane und Hydroxyethylstärke. Diese Substanzen haben sehr unterschiedliche chemische Strukturen und verschiedene Wirkmechanismen. Sie können deshalb über sehr unterschiedliche pathogenetische Prozesse Überempfindlichkeitsreaktionen mit sehr unterschiedlichen klinischen Manifestationen und Schweregraden hervorrufen (▫ Tab. 46.1). Insgesamt sind Überempfindlichkeitsreaktionen auf die hämostaseologisch wirksamen Medikamente in Anbetracht der Häufigkeit der Anwendung aber selten.

## 46.1 Einleitung

Überempfindlichkeitsrektionen werden üblicherweise nach dem Schema von Coombs und Gell eingeteilt (▫ Tab. 46.1), wobei auch nicht immunologisch vermittelte Reaktionen mit sehr ähnlicher Klinik, sogenannte pseudoallergische oder Intoleranzreaktionen, beobachtet werden können. In Abhängigkeit vom vorliegenden Pathomechanismus sind unterschiedliche diagnostische Methoden einzusetzen.

## 46.2 Hämostaseologisch wirksame Medikamente

### 46.2.1 Heparine

Obwohl Heparine sehr häufig angewendet werden, sind allergische Reaktionen relativ selten [1, 2]. Es können allergische Reaktionen vom Typ IV, vom Typ II und sehr selten auch vom Typ I auftreten.

#### Zellmediierte Reaktionen vom Spättyp (Typ IV)

Diese Reaktionen manifestieren sich typischerweise mit erythematösen, infiltrierten, teils überwärmten Plaques (▫ Abb. 46.1) an den Injektionsstellen, die gelegentlich auch Vesikel- und Blasenbildung (▫ Abb. 46.2) aufweisen.

Bei nicht sensibilisierten Patienten dauert die Induktionsphase meistens Wochen bis Monate, bei sensibilisierten tritt die Reaktion innerhalb von 2–4 Tagen auf. Bei sensibilisierten Patienten wurden nach intravenöser Gabe auch makulopapulöse Exantheme und Aufflammphänomene am Ort früherer subkutaner Injektionen beobachtet [3–5]. Plaques wurden auf unfraktionierte und niedermolekulare Heparine beobachtet, selten auf Danaparoid und Fondaparinux [6, 7]. Histologisch finden sich dichte lymphohistiozytäre Infiltrate und allenfalls eine Spongiose der Epidermis.

**! Risikofaktoren sind weibliches Geschlecht (die Reaktion wird praktisch ausschließlich bei Frauen beobachtet), Adipositas und repetitive oder langdauernde Therapie mit Heparinen.**

Die Wirkung von Heparin scheint nicht beeinträchtigt zu sein, wie wir kürzlich bei einem Patienten mit ausgeprägten Plaques auf Dalteparin dokumentieren konnten.




▫ **Abb. 46.1.** Erythematöse Plaque vom Spättyp (Typ IV) auf subkutanes Heparin

**Tab. 46.1.** Überempfindlichkeitsreaktionen (Pseudoallergie und immunpathologische Reaktionen nach Coombs und Gell Typ I–IV)

| | Pseudoallergie | Humorale Formen | | | Zelluläre Form |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Typ I | Typ II | Typ III | Typ IV |
| Weitere Bezeichnung | Intoleranz, Idiosynkrasie | Anaphylaktisch, Soforttyp | Zytotoxisch (IgG), zytolytisch (IgM, IgG) | Immunkomplex, Arthus-Phänomen | Spättyp, »delayed type« |
| Pathogenese (Sensibilisierungsphase) | Nur teilweise bekannt (z. B. Arachidonsäuremetabolismus) | IgE-Antikörper | IgG-, IgM-Antikörper | Immunkomplexe (IgG, IgM, IgA) | T-Zellen (CD4) |
| Pathogenese (Auslösungsphase) | Mastzellen | Mastzellen | Komplement (zytolytisch) | Komplement | T-Zellen (CD4/CD8) |
| Sekundäre Effektorzellen | Basophile und eosinophile Granulozyten | Basophile und eosinophile Granulozyten | NK-Zellen (zytotoxisch) | Neutrophile Granulozyten | Eosinophile Granulozyten, Epitheloidzellen, Monozyten |
| Mediatoren | Histamin, Zytokine, Leukotriene C4, D4, E4 | Histamin, Zytokine, Leukotriene, PAF | – | – | Zytokine, Chemokine |
| Latenzzeit | Sofort bis 30 min | Sofort bis 30 min | Minuten bis Stunden | 8–24 h | 24–48 h bis Tage |
| Dauer | Stunden | Stunden | Tage bis Wochen | Tage bis Wochen | Tage bis Wochen |
| Klinik, allergische Reaktion | Rhinitis, Asthma, Urtikaria, Angioödem, »anaphylaktoide« Reaktion | Rhinitis, Asthma, Urtikaria, Angioödem, Anaphylaxie | Thrombozytopenie, Agranulozytose | Vaskulitis allergica, allergische Alveolitis, Serumkrankheit | Kontaktekzem, Plaquereaktion, Arzneimittelexantheme (granulomatöse Reaktion) |
| Hauttests | Keine | Pricktest, Intradermaltest | Keine | Evtl. Intradermaltest | Epikutantest (Intradermaltest) |
| Labordiagnostik | Basophilenaktivierungstest (BAT) | Spezifische IgE, Basophilenaktivierungstest (BAT) | Coombs-Test, HIT-Diagnostik | Präzipitation, Agglutination | Lymphozytenstimulationstest |
| Auslöser (Beispiele) | Acetylsalicylsäure, Dextrane, HAES | Hirudine, Heparine | Heparine | Heterologe Sera | Heparine, Desinfektionsmittel |

*HAES* Hydroxyethylstärke; *HIT* heparininduzierte Thrombozytopenie; *NK-Zellen* natürliche Killerzellen



**Abb. 46.2.** Erythematöse, teils konfluierende Plaques mit Vesikelbildung und Streuung bei Spättypallergie auf subkutan verabreichtes Heparin

Sehr selten wurden komplexe Exantheme mit bullösem Verlauf, hohem Fieber, eine toxische epidermale Nekrolyse [4], ein Flexurenexanthem [8] sowie eine akute generalisierte exanthematische Pustulose [9] berichtet. Eine lokale Arthus-Reaktion (Immunkomplexreaktion), ebenfalls mit Erythem, Ödem, Blutung und nachfolgender Nekrose, wurde ebenfalls als Einzelfall beobachtet [10].

Die Differenzialdiagnose der Plaques umfasst Hämatome, infektiöse Komplikationen, eine Kontaktdermatitis, z. B. auf Desinfektionsmittel oder Verbandmaterial, sowie v. a. die frühe Phase der heparininduzierten Thrombozytopenie (HIT) II unter dem Bild der multiplen Hautnekrosen.

### Reaktionen vom Soforttyp

Selten wurden Symptome wie generalisierter Pruritus, Konjunktivitis, Rhinitis, Urtikaria, Bronchospasmus [1, 4] sowie eine Anaphylaxie [11] berichtet. Diese Überempfindlichkeitsreaktion wurde früher v. a. den Konservierungsmitteln und Verunreinigungen wie tierischen Proteinen zugeordnet [3, 11]. Nachgewiesene Überempfindlichkeitsreaktionen vom Soforttyp, die wahrscheinlich über IgE vermittelt sind, sind äußerst selten [12].

Kürzlich wurde über eine Häufung von schweren, teils letal ausgehenden anaphylaktoiden Reaktionen auf intravenös verabreichtes unfraktioniertes Heparin berichtet. Dies konnte nun mit hoher Wahrscheinlichkeit auf eine Kontamination mit übersulfatiertem Chondroitinsulfat zurückgeführt werden. Sowohl in vitro als auch in vivo am Tiermodell konnte gezeigt werden, dass es dadurch zur direkten Aktivierung der Kinin-Kallikrein-Kaskade sowie auch der Bildung der Komplementfaktoren C3a und C5a, die als potente Anaphylatoxine gelten, kommt. Die Aktivierung beider Kaskaden war an die Aktivierung von Faktor XII geknüpft. Ein anderer spezifisch immunologischer Pathomechanismus konnte nicht identifiziert werden [13].

### Eosinophilie

Eine isolierte periphere Eosinophilie wurde selten unter Heparintherapie beobachtet, die Aktivierung von CD4-Zellen, Sekretion von IL-3 und IL-5 kann zur Stimulation von eosinophilen Granulozyten führen [10, 14].

### Hautnekrosen bei HIT II

Nekrosen der Haut können eine der Manifestationen der schweren heparininduzierten Thrombozytopenie (HIT II) darstellen. Im Initialstadium ist die Nekrose von einem Hämatom, der Spättypreaktion auf subkutanes Heparin, einer Kontaktdermatitis oder einer Infektion abzugrenzen [14, 15].

Eine pathophysiologisch ungeklärte, sehr seltene unerwünschte Wirkung von Heparin an der Haut ist die bullöse hämorrhagische Dermatose [16]. Dabei treten pralle, hämorrhagische Blasen unabhängig vom Injektionsort von Heparin auf (Abb. 46.3). Die tieferen Hautschichten waren in der Histologie nicht betroffen, es fanden sich keine Komplement- oder Immunglobulinablagerungen. Die Patienten wiesen keine Hinweise für eine Spättypreaktion auf Heparine oder eine HIT auf.



**Abb. 46.3.** Bullöse hämorrhagische Dermatose: multiple pralle hämorrhagische Blasen, unabhängig vom Ort der Heparininjektion

## 46.2.2 Hirudine

Die thrombininhibitorischen Hirudine wurden initial aus dem Blutegel *Hirudo medicinalis* isoliert. Heute kommen rekombinant hergestellte Derivate wie Desirudin und Lepirudin zur Anwendung. Diese unterscheiden sich durch ihre Aminosäurezusammensetzung am terminalen Ende. Desirudin beinhaltet eine Valin-Valin-, Lepirudin eine Leucin-Threonin-Sequenz. Bivalirudin ist ein rekombinant hergestelltes Hirudinfragment mit einer kürzeren Halbwertszeit.

### Reaktionen vom Spättyp

Sehr selten wurden infiltrierte Plaques [17], eine granulomatöse Reaktion [18] sowie ein Arthus-ähnliches Phänomen nach intradermaler Applikation von Lepirudin [19] berichtet.

### Reaktionen vom Soforttyp

In einer Post-Marketing-Überwachungsstudie an 35.000 Patienten war das Anaphylaxierisiko 0,015% während der ersten Exposition und 0,16% bei reexponierten Patienten [20, 21]. Alle Reaktionen traten innerhalb weniger Minuten auf, 4 gingen tödlich aus. Bei einem Patienten wurden hohe Anti-Lepirudin-IgG-Antikörpertiter gemessen. Bei 3 Patienten wurden milde urtikarielle Reaktionen beobachtet. Ein weiterer Patient mit hirudinspezifischen IgG-Antikörpern



Abb. 46.4. Cumarinassoziierte Hautnekrose

entwickelte eine Urtikaria nach subkutaner Applikation mit Nachweis des IgG-Verbrauchs unter der Reaktion [22].

**Vor allem die wiederholte Exposition scheint ein hoher Risikofaktor zu sein, was die Bedeutung der Induktion hirudinspezifischer Antikörper unterstreicht. Die Kreuzreaktion zwischen den verschiedenen Hirudinen scheint sehr hoch zu sein.**

## 46.2.3 Cumarinderivate

Überempfindlichkeitsreaktionen auf Cumarinderivate (Warfarin, Phenprocoumon, Acenocoumarol) sind insgesamt sehr selten. Dazu zählen die Cumarinnekrose sowie extrem seltene makulopapulöse, urtikarielle und vesikulöse Exantheme [23, 24].

### Cumarinnekrose

Die Cumarinnekrose wurde erstmals 1943 beschrieben, ihre Prävalenz beträgt 0,01–0,1%. Sie tritt typischerweise innerhalb der ersten Tage der Therapieeinleitung auf.

**Die Cumarinnekrose wird überwiegend bei adipösen Frauen mit einer ausgesprochenen Prädilektion in Mamma-, Oberschenkel- und Gesäßregion beobachtet.**

Initial kann eine erythematöse, teils hämorrhagisch und anschließend bullöse, großflächige Manifestation auftreten, die typischerweise schmerzhaft ist (Abb. 46.4). Die Differenzialdiagnose umfasst wiederum die heparininduzierte Thrombozytopenie mit Hautnekrosen, die Plaquereaktion auf Heparine sowie im Frühstadium eine kutane Infektion [23, 24].

Die Pathophysiologie hängt von den Vitamin-K-abhängigen Proteinen C und S ab, die eine relativ kurze Halbwertszeit von 6–8 h aufweisen, während prokoagulatorische Proteine wie Faktor II, IX und X aufgrund ihrer längeren Halbwertszeit in einem hyperkoagulablen Status resultieren können. Hochrisikopatienten sind solche mit einer primären Protein-C- oder Protein-S-Defizienz oder Patienten mit einem Antikardiolipinsyndrom. Die Hautgefäße sind speziell betroffen, da ihnen ein Kollateralkreislauf fehlt, weshalb die Nekrose überwiegend an der Haut beobachtet wird.

### Andere Überempfindlichkeitsreaktionen

Nur sehr seltene Fälle mit makulopapulösen Exanthemen auf Cumarine wurden beschrieben [25–27]. Ein Patient reagierte auf 3 verschiedene Cumarinderivate [27], ein anderer hatte eine positive Reexposition. Urtikarielle Reaktionen [28] sowie bullöse Hautreaktionen scheinen extrem selten zu sein. Ebenfalls selten wird das »purple toe syndrome« beobachtet [29].

## 46.2.4 Plättchenaggregationshemmer

In dieser Substanzgruppe werden v. a. die Acetylsalicylsäure sowie die Thienopyridine Ticlopidin und Clopidogrel eingesetzt.

### Acetylsalicylsäure

Die Acetylsalicylsäure hemmt irreversibel das COX-1-Isoenzym in den Thrombozyten, was zu einer Reduktion von Thromboxan $A_2$ führt. Gleichzeitig wird auch das antiinflammatorische Prostaglandin $PGE_2$ reduziert sowie die Cysteinylleukotriene LTB4, LTC4 und LTD4 erhöht [30, 31]. Ein immunologischer Pathomechanismus via Antikörper (IgE und IgG) oder T-Zellen wurde für Acetylsalicylsäure bisher nicht schlüssig nachgewiesen.

### Überempfindlichkeitsreaktionen vom Soforttyp

COX-1-Inhibitoren und speziell die Acetylsalicylsäure können folgende Manifestationen hervorrufen [32, 33]:

- Exazerbation eines Asthma bronchiale sowie einer Rhinosinusitis bei Patienten mit einem sogenannten Widal-Syndrom (Samter-Trias),
- Exazerbation einer chronischen Urtikaria bzw. eines chronischen Angioödems bei Patienten mit dieser Grundkrankheit,
- anaphylaktoide Manifestationen mit Angioödem und Urtikaria bis hin zum kardiovaskulären Schock.

**Die häufigste und wichtigste Patientengruppe umfasst die Patienten mit einem Widal-Syndrom, das heute auch als aspirinexazerbierte respiratorische Erkrankung (AERD) bezeichnet wird.**

Sie umfasst die Triade mit nasaler Polyposis, intrinsischem Asthma und Überempfindlichkeit auf Acetylsalicylsäure. Eine periphere Eosinophilie ist typisch.

Wie oben erwähnt werden bei diesen Patientengruppen akute respiratorische und/oder kutane Symptome ausgelöst. Bei Patienten mit einem AERD tritt üblicherweise über viele Jahre eine chronische Rhinitis, später eine Rhinokonjunktivitis mit Hyposmie und nasaler Polyposis und später ein mittelschweres bis schweres nicht allergisches Asthma bronchiale auf.

Die Prävalenz des AERD liegt in der Allgemeinbevölkerung bei ca. 3% [34], bei Patienten mit einem schweren intrinsischen Asthma zwischen 4 und 11% [35, 36]. Die Erkrankung beginnt üblicherweise ab der dritten Lebensdekade und tritt bevorzugt bei Frauen auf.

Eine Untergruppe der AERD-Patienten scheinen exzessiv Leukotrien-C4-Synthase zu besitzen, was zu einer Überproduktion von Sulfidoleukotrienen und Aufregulation der Sulfidoleukotrienrezeptoren führt [37, 38]. Auch eine erhöhte Produktion von 15-HETE (15-Hydroxyeicosatetraenolsäure) in peripheren Leukozyten und den nasalen Polypen wurde beschrieben.

Zu beachten ist, dass bei diesen Patienten trotz Weglassen von Acetylsalicylsäure die inflammatorischen Symptome weiterhin bestehen, sodass diese Substanz als Aggravator, nicht aber als kausale Ursache der Erkrankung gilt.

Bei der durch Acetylsalicylsäure exazerbierten chronischen Urtikaria bzw. dem Angioödem wurde eine Assoziation mit Genotypen der HLA-Klasse 1 und 2 beschrieben [39, 40]. Auch hier wird die vorhandene Grundkrankheit durch die Einnahme von Acetylsalicylsäure deutlich verstärkt, nicht aber kausal ausgelöst. Gelegentlich leiden solche Patienten auch an einem Oppressionsgefühl bzw. an einer Dyspnoe.

Schließlich kann die Einnahme von Acetylsalicylsäure bei anderweitig gesunden Individuen zu einer akuten anaphylaktoiden Reaktion mit kutanen Symptomen wie akuter Urtikaria und Angioödem sowie mit Bronchospasmus bis hin zum kardiovaskulären Schock führen. Auch hier konnte bislang kein immunologischer Pathomechanismus via Antikörper belegt werden.

#### Reaktionen vom Spättyp

Exanthematische Reaktionen, phototoxische Reaktionen sowie schwere bullöse Reaktionen wurden unter Acetylsalicylsäureeinnahme nur sehr selten beobachtet [30, 33].

#### Thienopyridine

Thienopyridine (Ticlopidin und Clopidogrel) sind Pro-Drugs und erreichen ihre Aktivität erst nach hepatischer Metabolisierung. Die schwerste Überempfindlichkeitsreaktion ist eine Neutropenie, auf Ticlopidin wurden Fälle mit thrombotischer thrombozytopenischer Purpura beobachtet.

Da Thienopyridine nicht die COX-Isoenzyme blockieren, werden die unter Acetylsalicylsäure auftretenden Symptome praktisch nicht beobachtet. Sehr selten wurden urtikarielle Exantheme, ein Angioödem [41] sowie eine Arthritis beschrieben. Auch ein medikamentöses Hypersensitivitätssyndrom mit Thrombozytopenie, Lymphopenie, Hepatitis und Pneumonitis wurde beschrieben [41–45]. Ein Patient mit einem Exanthem unter Clopidogrel wurde ebenfalls beobachtet [46].

Ein immunologischer Pathomechanismus konnte bisher nicht schlüssig belegt werden. Gelegentlich waren Hauttests positiv, was aber nicht einem formellen Antikörpernachweis entspricht.

### 46.2.5 Rekombinante und synthetische Glykoprotein-IIb-IIIa-Inhibitoren

Für diese neueren Substanzen Abciximab (humanisierter monoklonaler Mausantikörper), Tirofiban und Eptifibatide wurden bisher nur sehr selten Überempfindlichkeitsreaktionen berichtet. Abciximab scheint eine Thrombozytopenie via IgG- und/oder IgM-Antikörper gegen Plättchen auslösen zu können [47].

### 46.2.6 Dextrane und Hydroxyethylstärke

Dextrane und Hydroxyethylstärke (HAES) wurden in der Vergangenheit neben ihrem Einsatz als Plasmaexpander auch in der perioperativen Antikoagulation eingesetzt.

Dextrane waren in den 1980er-Jahren die häufigste Substanzgruppe, die anaphylaktoide Reaktionen auslöste [48, 49]. Sie waren auch für die meisten Todesfälle verantwortlich. Die Rate der Zwischenfälle konnte mit der Vorbehandlung mit dem niedermolekularen Dextran 1 (Promit®) deutlich reduziert werden [49]. Trotzdem sind schwere anaphylaktoide Schockreaktionen beobachtet worden [50, 51]. In der Pathogenese spielen Immunkomplexe mit dextranreaktiven IgG-Antikörpern eine zentrale Rolle. Daneben wurden auch hohe Anti-Dextran-IgA- und -IgM-Antikörpertiter identifiziert [52, 53].

Hydroxyethylstärke kann ebenfalls anaphylaktoide Reaktionen auslösen. Im Gegensatz zu Dextranen konnten keine spezifischen Antikörper identifiziert werden. Die Rate beträgt ca. 0,058% [54], nur in einem einzelnen Fall wurden spezifische IgE gegenüber Hydroxyethylstärke nachgewiesen [55].

> **! Ein weniger bekanntes Problem ist die Entwicklung eines chronischen Pruritus auf HAES, der erst einige Wochen nach der Exposition auftritt.**

Er ist äußerst therapieresistent und kann über Monate bis hin zu 2 Jahre persistieren. Die ausgeprägte Ablagerung von HAES in perivaskulären Histiozyten und Makrophagen scheint eine zentrale pathophysiologische Rolle zu spielen [56, 57].

## 46.3 Diagnostisches Vorgehen und allergologische Abklärungen

Im Falle einer vermutlichen Überempfindlichkeitsreaktion auf eine hämostaseologisch wirksame Substanz sollte die Behandlung unverzüglich sistiert werden. Die Histologie einer kutanen Läsion kann die Differenzialdiagnose zwischen einer Plaquereaktion und einer kutanen Nekrose unterstützen.

Eine allergologische Abklärung sollte von einem darin erfahrenen Arzt durchgeführt werden, insbesondere die In-vivo-Testverfahren (Hauttests und Provokationstests) sind bezüglich ihrer Durchführung und Interpretation komplex (Tab. 46.2; [1, 2]).

Als In-vivo-Testverfahren und Hauttests können je nach Pathomechanismus Prick-, Intradermal- und Epikutantests durchgeführt werden. Bei Verdacht auf eine Soforttypreaktion via IgE-Antikörper werden unverdünnte Testsubstanzen im Pricktestverfahren und stark verdünnte Testsubstanzen intradermal getestet (Tab. 46.2). Unverdünnte Heparine lösen bei der intradermalen Applikation initial eine deutliche irritative Testreaktion aus. Zur Diagnose einer Spättyp-

**Tab. 46.2.** Diagnostische Tests zur Abklärung von Überempfindlichkeitsreaktionen auf Antikoagulanzien

| Antikoagulans | Klinische Reaktion | Empfohlener Test | Alternativer Test | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| Heparine | Plaquereaktion, disseminiertes Exanthem | – Intradermaltests (Verdünnung ≤1:10)<br>– subkutaner Provokationstest (unverdünnt) | – Epikutantests (unverdünnt) | – Spätablesung (nach 2–5 Tagen)<br>– Epikutantests weniger sensitiv<br>– Provokationstest zum Nachweis der Verträglichkeit von hauttestnegativen Heparinen |
| | Urtikaria, Anaphylaxie | – Pricktest (unverdünnt) | – Intradermaltest (Verdünnung ≥1:100) | – Ablesung nach 20–30 min |
| | Hautnekrose (HIT II) | – Thrombozytenzahl<br>– Anti-PF4-AK-Assay | – Thrombozytenaggregationstest<br>– Serotonin-Release-Test (beide nur in Speziallaboratorien durchgeführt) | – Haut- und Provokationstests sind kontraindiziert! |
| Hirudine | Urtikaria, Anaphylaxie | – Pricktest (unverdünnt) | – Intradermaltest (Verdünnung ≥1:100)<br>– IgE- und IgG-Antikörper (nur im Rahmen von Studien durchgeführt) | – Ablesung nach 20–30 min |
| Cumarine | Hautnekrose | – Protein-C-, Protein-S-Messung | – Keine | – Hauttests und Reexposition sind kontraindiziert! |
| Thrombozytenaggregationsinhibitoren (Acetylsalicylsäure, Thienopyridine) | Urtikaria, Asthma, Angioödem | – Basophilenaktivierungstests; nur in Speziallaboratorien durchgeführt | – Provokationstest | – Pseudoallergie, Toleranzinduktion möglich<br>– Hauttests nicht sinnvoll |
| Dextrane | Anaphylaktoide Reaktionen (Urtikaria, Bronchospasmus, Schock) | – Antikörpermessung (IgG, IgM; nur in Speziallaboratorien durchgeführt) | – Keine | – Hauttests nicht sinnvoll |
| Hydroxyethylstärke (HAES) | Anaphylaktoide Reaktionen | – Keine | – Keine | – Hauttests nicht sinnvoll |
| | Chronischer Pruritus | – Hautbiopsie | – Keine | – Ablagerung von HAES in Makrophagen |

reaktion können Epikutantests und Intradermaltests mit Spätablesung analog zu einem Mantoux-Test durchgeführt werden, und auch eine Überempfindlichkeit auf die Konservierungsmittel (Chlorocresol, Natriummetabisulfit etc.) sollte ausgeschlossen werden. Epikutantests sind allerdings weniger sensitiv als Intradermaltests [58–60].

Zur Identifikation einer alternativen Substanz sollten mehrere Heparine bzw. Hirudine getestet werden. Bei der Spättypreaktion auf Heparine müssen die Tests nach bis zu 4 oder 5 Tagen abgelesen werden. Zum Nachweis der Toleranz einer alternativen Substanz wird der subkutane Provokationstest mit der vollen Dosis empfohlen, auch hier muss die Ablesung bis über eine Woche erfolgen, um spät auftretende Reaktionen nicht zu verpassen [61].

**! Da es sich bei Heparin um eine im Notfall anzuwendende Substanz handelt, kann auch ein intravenöser Provokationstest zum Nachweis der Verträglichkeit indiziert sein. Derartige Tests sollten nur von erfahrenen Allergologen unter entsprechender Überwachung durchgeführt werden [62].**

Standardisierte und validierte In-vitro-Testverfahren, sowohl für den serologischen Nachweis von Antikörpern (IgE, IgG und IgM) als auch zelluläre Tests, sind für die Routine nicht etabliert. Antikörpernachweise z. B. von IgE-, IgG-, IgM-Antikörpern gegenüber Hirudin wurden insbesondere im Rahmen von Studien durchgeführt und stehen für die Routinediagnostik ebenfalls nicht zur Verfügung. Zelluläre Tests wie der Lymphozytenstimulationstest waren in Einzelfällen positiv [63, 64], weisen aber oft falsch-negative Resultate auf [65]. Auch Basophilenaktivierungstests zum Nachweis einer Soforttypreaktion haben eine sehr geringe Sensitivität und Reproduzierbarkeit. Nur sehr selten wurden positive Resultate publiziert [66, 67].

Zum Nachweis der Acetylsalicylsäureüberempfindlichkeit wurden ebenfalls Basophilenaktivierungstests eingesetzt (CD63-Expression, Sulfidoleukotrienstimulation), aber auch hier ist die Sensitivität gering [68]. Für die Diagnose der heparininduzierten Thrombozytopenie wurden früher die Thrombozytenaggregationstests mit einer geringen Sensitivität, heute die sensitiven und spezifischen Serotonin-Release-Tests sowie der »heparin induced platelet activation test« (HIPA) und die Messung von PF4-spezifischen Antikörpern in spezialisierten Labors angeboten.

## 46.4 Kreuzreaktionen und Behandlungsalternativen

Eine allergologische Abklärung bei Patienten mit einer Spättypreaktion vom Plaquetyp auf Heparine ist indiziert, da häufig trotzdem hochmolekulare Heparine intravenös toleriert wurden [63]. Insbesondere der Stellenwert des unfraktionierten Heparins in der Behandlung akuter thromboembolischer Ereignisse ist dabei von zentraler Bedeutung.

Bei den zellulär vermittelten Spättypreaktionen auf unfraktionierte und niedermolekulare Heparine kann eine sehr breite Kreuzreaktivität bestehen, und auch Danaparoid und Natriumpentosanpolysulfat können eine Kreuzreaktivität aufweisen [7]. Patienten mit Spättypreaktionen auf Heparin zeigten in bis zu 81% der Fälle eine Kreuzreaktivität auf Danaparoid und in bis zu 45% auf Pentosanpolysulfat [4, 59, 60]. Der FXa-Inhibitor Fondaparinux, eine exakte Kopie der Heparinpentasaccharidsequenz, wurde als Alternative bei der HIT II [69], aber auch für die Spättypreaktion auf Heparine [70, 71] empfohlen. Eine HIT II scheint bis heute nicht beobachtet worden zu sein, hingegen wurden einige Fälle von Spättypreaktionen auf Fondaparinux mit mildem Verlauf beschrieben [6].

Aufgrund der sehr unterschiedlichen Wirkungsweise und chemisch-molekularen Zusammensetzung ist zwischen Heparinen, Hirudinen und z. B. Acetylsalicylsäure keine Kreuzreaktivität zu erwarten. Somit können Patienten mit einer Reaktion mit Soforttypsymptomatik z. B. auf Hirudine mit Heparinen behandelt werden. Innerhalb der Hirudine scheint aber eine hohe Kreuzreaktivität zu bestehen.

## 46.5 Toleranzinduktion

Bei ausgewählten Patienten mit einer Überempfindlichkeit mit Soforttypsymptomen insbesondere auf Acetylsalicylsäure und Thienopyridine kann eine Toleranzinduktion durchgeführt werden. Diese sollte wiederum von allergologisch erfahrenen Ärzten unter entsprechenden Überwachungssituationen durchgeführt werden.

Eine Toleranzinduktion (»Desensibilisierung« mit Acetylsalicylsäure) ist v. a. bei Patienten mit Stenteinlage und bei schwangeren Frauen mit einem Antiphospholipidsyndrom indiziert [72, 73]. Bei den meisten Patienten können therapeutische Dosen innerhalb weniger Stunden erreicht werden. Der Wirkmechanismus ist nicht geklärt.

**! Es ist zu beachten, dass bereits eine Unterbrechung von wenigen Tagen zu einem Verlust der Toleranz führt, womit eine erneute Einleitung der Toleranzinduktion notwendig wird [74].**

Bereits bei einem Auslassen der Acetylsalicylsäuredosis während 2 Tagen wird empfohlen, die Desensibilisierung erneut einzuleiten. Unterschiedliche Protokolle wurden publiziert, üblicherweise ist das Erreichen von 100–325 mg Acetylsalicylsäure ausreichend [72, 75, 76].

Für Heparine wurden derartige Toleranzinduktionen nur in seltenen Einzelfällen beschrieben [77].

**Cave**

Bei Patienten mit Verdacht auf Spättypreaktionen auf Heparine, exanthematischen Reaktionen und besonders der HIT II ist jeglicher Versuch einer Reexposition kontraindiziert. Insbesondere bei der HIT II können bereits geringe Dosen von Heparin zu einem schwerwiegenden Rezidiv führen.

Auch für die Thienopyridine wurde in Einzelfällen eine Toleranzinduktion mit Clopidogrel bei Patienten, die eine soforttypähnliche Überempfindlichkeit erlitten haben, durchgeführt und während mehrerer Monate ohne Probleme fortgesetzt [75, 78–80].

### 46.5.1 Praktische Empfehlungen

Bei Auftreten von Hautveränderungen unter Antikoagulanzientherapie sollte möglichst früh eine korrekte morphologische Diagnose gestellt werden. Die Abgrenzung zwischen Frühstadien der Blutung, eines allergischen Kontaktekzems, einer infiltrierten Plaque oder einer beginnenden Nekrose ist für den Nichtspezialisten nicht immer einfach. Eine histologische Untersuchung kann hier zur Klärung beitragen. Bei entsprechendem Verdacht sollte auch ein differenziertes Blutbild (Eosinophilie, Thrombozytopenie) durchgeführt und spezifische diagnostische Tests angefordert werden.

Besonders bei den unerwünschten Wirkungen mit einer hohen Morbidität (Marcumar-Nekrose) oder einer potenziellen Mortalität (HIT II, Anaphylaxie, anaphylaktoide Reaktion) muss die Therapie unverzüglich abgebrochen und mit einer Alternative fortgesetzt werden.

## Literatur


[1] Bircher AJ, Harr T, Hohenstein L et al. (2006) Hypersensitivity reactions to anticoagulant drugs: diagnosis and management options. Allergy 61: 1432–40

[2] Scherer K, Tsakiris D, Bircher AJ (2008) Hypersensitivity Reactions to Anticoagulant Drugs. Curr Pharm Des 14(27): 2863–73

[3] Bircher AJ (1993) Allergische Reaktionen vom Spättyp auf Heparine. Allergologie 16: 268–74

[4] Jappe U, Gollnick H (1999) Allergy to heparin, heparinoids, and recombinant hirudin. Diagnostic and therapeutic alternatives. Hautarzt 50: 406–11

[5] Wutschert R, Piletta P, Bounameaux H (1999) Adverse skin reactions to low molecular weight heparins: frequency, management and prevention. Drug Saf 20: 515–25

[6] Hohenstein E, Tsakiris D, Bircher AJ (2004) Delayed-type hypersensitivity to the ultra-low-molecular-weight heparin fondaparinux. Contact Dermatitis 51: 149–51

[7] Ludwig RJ, Schindewolf M, Alban S et al. (2005) Molecular weight determines the frequency of delayed type hypersensitivity reactions to heparin and synthetic oligosaccharides. Thromb Haemost 94: 1265–9

[8] Häusermann P, Harr T, Bircher AJ (2004) Baboon syndrome resulting from systemic drugs: is there strife between SDRIFE and allergic contact dermatitis syndrome? Contact Dermatitis 51: 297–310

[9] Komericki P, Grims R, Kranke B et al. (2007) Acute generalized exanthematous pustulosis from dalteparin. J Am Acad Dermatol 57: 718–21

[10] Jappe U (2006) Allergy to heparins and anticoagulants with a similar pharmacological profile: an update. Blood Coagul Fibrinolysis 17: 605–13

[11] Bottio T, Pittarello G, Bonato R et al. (2003) Life-threatening anaphylactic shock caused by porcine heparin intravenous infusion during mitral valve repair. J Thorac Cardiovasc Surg 126: 1194–5

[12] Harr T, Scherer K, Tsakiris DA et al. (2006) Immediate type hypersensitivity to low molecular weight heparins and tolerance of unfractioned heparin and fondaparinux. Allergy 61: 787–8

[13] Kishimoto TK, Viswanathan K, Ganguly T et al. (2008) Contaminated Heparin Associated with Adverse Clinical Events and Activation of the Contact System. N Engl J Med 358: 2457–67

[14] Bircher AJ, Itin P, Büchner S (1994) Skin lesions, hypereosinophilia, and subcutaneous heparin. Lancet 343: 861

[15] Bircher AJ (1993) The differential diagnosis of heparin-induced skin lesions. Br J Haematol 85: 837

[16] Perrinaud A, Jacobi D, Machet MC et al. (2006) Bullous hemorrhagic dermatosis occurring at sites distant from subcutaneous injections of heparin: three cases. J Am Acad Dermatol 54: S5-S7

[17] Zollner TM, Gall H, Volpel H et al. (1996) Type IV allergy to natural hirudin confirmed by in vitro stimulation with recombinant hirudin. Contact Dermatitis 35: 59–60

[18] Smith KJ, Rosario-Collazo J, Skelton H (2001) Delayed cutaneous hypersensitivity reactions to hirudin. Arch Pathol Lab Med 125: 1585–7

[19] Jappe U, Reinhold D, Bonnekoh B (2002) Arthus reaction to lepirudin, a new recombinant hirudin, and delayed-type hypersensitivity to several heparins and heparinoids, with tolerance to its intravenous administration. Contact Dermatitis 46: 29–32

[20] Greinacher A, Eichler P, Albrecht D et al. (2003) Antihirudin antibodies following low-dose subcutaneous treatment with desirudin for thrombosis prophylaxis after hip-replacement surgery: incidence and clinical relevance. Blood 101: 2617–9

[21] Greinacher A, Lubenow N, Eichler P (2003) Anaphylactic and anaphylactoid reactions associated with lepirudin in patients with heparin-induced thrombocytopenia. Circulation 108: 2062–5

[22] Bircher AJ, Czendlik C, Langauer Messmer S et al. (1996) Acute urticaria from subcutaneous recombinant hirudin. Evidence for an IgG-mediated hypersensitivity reaction. J Allergy Clin Immunol 98: 994–6

[23] Chan YC, Valenti D, Mansfield AO et al. (2000) Warfarin induced skin necrosis. Br J Surg 87: 266–72

[24] Essex DW, Wynn SS, Jin DK (1998) Late-onset warfarin-induced skin necrosis: case report and review of the literature. Am J Hematol 57: 233–7

[25] Antony SJ, Krick SK, Mehta PM (1993) Unusual cutaneous adverse reaction to warfarin therapy. South Med J 86: 1413–4

[26] Jorg I, Fenyvesi T, Harenberg J (2002) Anticoagulant-related skin reactions. Expert Opin Drug Saf 1: 287–94

[27] Kruis-de Vries MH, Stricker BH, Coenraads PJ et al. (1989) Maculopapular rash due to coumarin derivatives. Dermatologica 178: 109–11

[28] Sheps SG, Gifford RW, Jr (1959) Urticaria after administration of warfarin sodium. Am J Cardiol 3: 118–20

[29] Talmadge DB, Spyropoulos AC (2003) Purple toes syndrome associated with warfarin therapy in a patient with antiphospholipid syndrome. Pharmacotherapy 23: 674–7

[30] Pfaar O, Klimek L (2006) Aspirin desensitization in aspirin intolerance: update on current standards and recent improvements. Curr Opin Allergy Clin Immunol 6: 161–6

[31] Veach SA, Franks AM, Allan MC (2007) Severe anaphylactic reaction after repeated intermittent exposure to lepirudin. Pharmacotherapy 27: 760–5

[32] Berges-Gimeno MP, Martin-Lazaro J (2007) Allergic reactions to nonsteroidal anti-inflammatory drugs: is newer better? Curr Allergy Asthma Rep 7: 35–40

[33] Schiavino D, Nucera E, Milani A et al. (2000) The aspirin disease. Thorax 55 Suppl 2: S66–9

[34] Jenkins C, Costello J, Hodge L (2004) Systematic review of prevalence of aspirin induced asthma and its implications for clinical practice. BMJ 328: 434

[35] Kasper L, Sladek K, Duplaga M et al. (2003) Prevalence of asthma with aspirin hypersensitivity in the adult population of Poland. Allergy 58: 1064–6

[36] Vally H, Taylor ML, Thompson PJ (2002) The prevalence of aspirin intolerant asthma (AIA) in Australian asthmatic patients. Thorax 57: 569–74

[37] Penrose JF, Baldasaro MH (1999) Leukotriene C4 synthase: a candidate gene for the aspirin-intolerant asthmatic phenotype. Allergy Asthma Proc 20: 353–60

[38] Sousa AR, Parikh A, Scadding G et al. (2002) Leukotriene-receptor expression on nasal mucosal inflammatory cells in aspirin-sensitive rhinosinusitis. N Engl J Med 347: 1493–9

[39] Kim SH, Choi JH, Lee KW et al. (2005) The human leucocyte antigen-DRB1*1302-DQB1*0609-DPB1*0201 haplotype may be a strong genetic marker for aspirin-induced urticaria. Clin Exp Allergy 35: 339–44

[40] Pacor ML, Di Lorenzo G, Mansueto P et al. (2006) Relationship between human leucocyte antigen class I and class II and chronic idiopathic urticaria associated with aspirin and/or NSAIDs hypersensitivity. Mediators Inflamm 2006: 62489

[41] Fischer TC, Worm M, Groneberg DA (2003) Clopidogrel-associated angioedema. Am J Med 114: 77–8

[42] Comert A, Akgun S, Civelek A et al. (2005) Clopidogrel-induced hypersensitivity syndrome associated with febrile pancytopenia. Int J Dermatol 44: 882–4

[43] Doogue MP, Begg EJ, Bridgman P (2005) Clopidogrel hypersensitivity syndrome with rash, fever, and neutropenia. Mayo Clin Proc 80: 1368–70

[44] Phillips EJ, Knowles SR, Shear NH (2003) Serum sickness-like reaction associated with clopidogrel. Br J Clin Pharmacol 56: 583

[45] Sarrot-Reynauld F, Bouillet L, Bourrain JL (2001) Severe hypersensitivity associated with clopidogrel. Ann Intern Med 135: 305–6

[46] Gutierrez-Fernandez D, Fuentes-Vallejo MS, Rueda-Ygueravides MD et al. (2007) Immediate hypersensitivity and delayed hypersensitivity to clopidogrel. Allergol Immunopathol (Madr) 35: 213–5

[47] Curtis BR, Divgi A, Garritty M et al. (2004) Delayed thrombocytopenia after treatment with abciximab: a distinct clinical entity associated with the immune response to the drug. J Thromb Haemost 2: 985–92

[48] Ring J (1991) Anaphylactoid reactions to intravenous solutions used for volume substitution. Clin Rev Allergy 9: 397–414

[49] Wang DY, Forslund C, Persson U et al. (1998) Drug-attributed anaphylaxis. Pharmacoepidemiol Drug Saf 7: 269–74

[50] Bircher AJ, Hédin H, Berglund A (1995) Probable grade IV dextran-induced anaphylactic reaction despite hapten inhibition. J Allergy Clin Immunol 95: 633–4

[51] Lehmann G, Asskali F, Förster H (2002) Schwerer Zwischenfall nach i.v.-Applikation von 10ml (0,6g) 6%igem Dextran60 bei einem gesunden Probanden. Anaesthesist 51: 820–4

[52] Kraft D, Hedin H, Richter W et al. (1982) Immunoglobulin class and subclass distribution of dextran-reactive antibodies in human reactors and non reactors to clinical dextran. Allergy 37: 481–9

[53] Richter W, Hedin H, Kraft D et al. (1981) [Anaphylactoid reactions after dextran. I. Immunology of the pathomechanism and the hapten inhibition]. Beitr Infusionther Klin Ernahr 8: 54–65

[54] Dieterich HJ, Kraft D, Sirtl C et al. (1998) Hydroxyethyl Starch Antibodies in Humans: Incidence and Clinical Relevance. Anesth Analg 86: 1123–6

[55] Ebo DG, Schuerwegh A, Stevens WJ (2000) Anaphylaxis to starch. Allergy 55: 1098–9

[56] Boldt J (2004) Hydroxyethyl starch – can the safety problems be ignored? Wien Klin Wochenschr 116: 640–1

[57] Bork K (2005) Pruritus precipitated by hydroxyethyl starch: a review. Br J Dermatol 152: 3–12

[58] Harenberg J, Hoffmann U, Huhle G et al. (2001) Cutaneous reactions to anticoagulants. Recognition and management. Am J Clin Dermatol 2: 69–75

[59] Koch P (2003) Delayed-type hypersensitivity skin reactions due to heparins and heparinoids. Tolerance of recombinant hirudins and of the new synthetic anticoagulant fondaparinux. Contact Dermatitis 49: 276–80

[60] Nicolie B, Bonneau JC, Le Sellin J et al. (2002) Delayed hypersensitivity to heparins and heparinoids. Allerg Immunol (Paris) 34: 47–50

[61] Wurpts G, Merk HF (2007) Delayed intracutaneous test reaction in heparin intolerance. Hautarzt 58: 394–6

[62] Aberer W, Bircher A, Romano A et al. (2003) Drug provocation testing in the diagnosis of drug hypersensitivity reactions: general considerations. Allergy 58: 854–63

[63] Bircher AJ (1994) Diagnostic tests for delayed type-hypersensitivity reactions to heparins and safety of intravenous heparin. Am J Contact Dermatitis 5: 56–7

[64] Bircher AJ, Itin P, Tsakiris D et al. (1995) Delayed hypersensitivity to one low-molecular-weight heparin with tolerance of other low-molecular-weight heparins. Br J Dermatol 132: 461–3

[65] Ji SL, Cui HF, Shi F et al. (2004) Inhibitory effect of heparin-derived oligosaccharides on secretion of interleukin-4 and interleukin-5 from human peripheral blood T lymphocytes. World J Gastroenterol 10: 3490–4

[66] Caballero MR, Fernandez-Benitez M (2003) Allergy to heparin: a new in vitro diagnostic technique. Allergol Immunopathol (Madr) 31: 324–8

[67] Ebo DG, Haine SE, Hagendorens MM et al. (2004) Hypersensitivity to nadroparin calcium : case report and review of the literature. Clin Drug Investig 24: 421–6

[68] Sanz ML, Gamboa P, de Weck AL (2005) A new combined test with flowcytometric basophil activation and determination of sulfidoleukotrienes is useful for in vitro diagnosis of hypersensitivity to aspirin and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Int Arch Allergy Immunol 136: 58–72

[69] Savi P, Chong BH, Greinacher A et al. (2005) Effect of fondaparinux on platelet activation in the presence of heparin-dependent antibodies: a blinded comparative multicenter study with unfractionated heparin. Blood 105: 139–44

[70] Maetzke J, Hinrichs R, Schneider LA et al. (2005) Unexpected delayed-type hypersensitivity skin reactions to the ultra-low-molecular-weight heparin fondaparinux. Allergy 60: 413–5

[71] Maetzke J, Hinrichs R, Staib G et al. (2004) Fondaparinux as a novel therapeutic alternative in a patient with heparin allergy. Allergy 59: 237–8

[72] Castells M (2006) Desensitization for drug allergy. Curr Opin Allergy Clin Immunol 6: 476–81

[73] Silberman S, Neukirch-Stoop C, Steg PG (2005) Rapid desensitization procedure for patients with aspirin hypersensitivity undergoing coronary stenting. Am J Cardiol 95: 509–10
[74] Jenneck C, Juergens U, Buecheler M et al. (2007) Pathogenesis, diagnosis, and treatment of aspirin intolerance. Ann Allergy Asthma Immunol 99: 13–21
[75] Page NA, Schroeder WS () Rapid desensitization protocols for patients with cardiovascular disease and aspirin hypersensitivity in an era of dual antiplatelet therapy. Ann Pharmacother 2007 41: 61–7
[76] Wong JT, Nagy CS, Krinzman SJ et al. (2000) Rapid oral challenge-desensitization for patients with aspirin-related urticaria-angioedema. J Allergy Clin Immunol 105: 997–1001
[77] Patriarca G, Rossi M, Schiavino D et al. (1994) Rush desensitization in heparin hypersensitivity: a case report. Allergy 49: 292–4
[78] Owen P, Garner J, Hergott L et al. (2008) Clopidogrel desensitization: case report and review of published protocols. Pharmacotherapy 28: 259–70
[79] von Tiehl KF, Price MJ, Valencia R et al. (2007) Clopidogrel desensitization after drug-eluting stent placement. J Am Coll Cardiol 50: 2039–43
[80] Walker NE, Fasano MB, Hobbs RA et al. (2007) Clopidogrel desensitization protocol for the treatment of thienopyridine hypersensitivity. Crit Pathw Cardiol 6: 26–9

# 51 Antikoagulation

## 51.1 Heparine und andere Glykoantikoagulanzien

*S. Alban*



### Einleitung

Heparine und andere Glykoantikoagulanzien sind die einzigen Arzneistoffe auf »Zuckerbasis«, die sich in der evidenzbasierten Medizin einen wichtigen Platz erobert haben. Unfraktioniertes Heparin verfügt über eine 70-jährige Tradition in der medizinischen Anwendung. Die niedermolekularen Heparine sind bis heute Mittel der Wahl in der akuten Thromboembolieprophylaxe und Therapie und zählen zu den »Blockbuster-Arzneimitteln«. Danaparoid hat sich als Notfallmedikament bei der heparininduzierten Thrombozytopenie etabliert, und mit dem synthetischen Fondaparinux gehört auch eine echte Innovation zu dieser Gruppe von Antikoagulanzien. Neben Insulin und Wachstumshormon zählen die Heparine zu den ältesten »Biologicals«; mittlerweile sind sie die Nummer eins unter den Arzneimitteln tierischen Ursprungs.



### 51.1.1 Substanzklassen und Präparate

Die Gruppe der Glykoantikoagulanzien (GA) ist streng von den übrigen Antikoagulanzien, d. h. den Vitamin-K-Antagonisten, Hirudin und Bivalirudin sowie den synthetischen Thrombin- und Faktor-Xa-Inhibitoren, abzugrenzen. Es handelt sich um körpereigene bzw. analoge synthetische »Zuckerstrukturen«, deren Wirkung auf physiologischen antithrombotischen Prinzipien beruht. Grundsätzlich ist zwischen den natürlichen GA, komplex zusammengesetzten Glykosaminoglykan-(GAG-)Gemischen, und den synthetischen GA, chemisch definierten Oligosacchariden, zu unterscheiden (siehe Übersicht).

**Glykoantikoagulanzien**

- **Natürliche:**
  - unfraktioniertes Heparin (UFH)
  - niedermolekulare Heparine (NMH)
  - Danaparoid
- **synthetische:**
  - Fondaparinux
  - Idraparinux (Phase III)
  - Heparinmimetikum SR123781A (Phase II/III)

#### Unfraktioniertes Heparin

**Vorkommen und physiologische Bedeutung.** Genuines Heparin zählt zu den GAG, anionischen Biopolymeren, die in allen Vertebraten vorkommen. Bedeutende Konzentrationen an Heparin weisen v. a. Darmmukosa, Lunge, Leber, Thymus, Milz und Herz auf, aber auch Lymphe, das Gefäßendothel und Plasma enthalten Heparin. Heparin wird in Mastzellen gebildet. Aus dem zunächst synthetisierten Heparinproteoglykan Serglycin entsteht durch Einwirkung spezifischer Proteasen und Endo-β-glukuronidasen Heparin, das zusammen mit Histamin, Mastzellproteasen und anderen Mediatoren in den sekretorischen Granula gespeichert wird. Obwohl Heparin unter den GAG am stärksten gerinnungshemmend wirkt, ist es im Körper nicht an der Aufrechterhaltung des Blutflusses beteiligt (Rabenstein 2002). Man nimmt an, dass es für die adäquate Speicherung der Granulasubstanzen verantwortlich ist (Humphries et al. 1999; Forsberg et al. 1999).

**Herstellung.** Jährlich werden über 33 Tonnen UFH pharmazeutischer Qualität produziert. Es kann aus den Lungen von Rindern oder den Intestinalschleimhäuten von Rindern, Schweinen und Schafen gewonnen werden (Europäisches Arzneibuch, PhEur 6.0). Dem Vorsichtsprinzip (»precautionary principle«) folgend wird es aber seit der BSE-Krise (bovine spongiforme Enzephalopathie, »Rinderwahnsinn«) für die Verwendung als Arzneimittel ausschließlich aus Schweinedarmmukosa isoliert, um jegliches Risiko einer potenziellen Kontamination mit TSE-Erregern (»transmissible spongiform encephalopathies«) zu vermeiden bzw. um den hohen Aufwand für den Beweis der Freiheit an TSE-Erregern zu umgehen (Alban 2005a).

Aus der Mukosa eines Schweins (~1,8 kg) lassen sich etwa 270 mg bzw. 45.000 IE UFH gewinnen (Alban 2005b). Zunächst wird die Mukosa mit Proteasen behandelt und mit Salzlösung extrahiert. Aus der Extraktlösung wird Rohheparin mit Alkohol gefällt. Das erhaltene Rohheparin wird nachfolgend aufgereinigt und ergibt schließlich UFH pharmazeutischer Qualität, das jedoch bis zu 10% Dermatansulfat und andere GAG enthalten kann (Alban 1997). UFH liegt entweder als Natrium- oder Kalziumsalz vor.

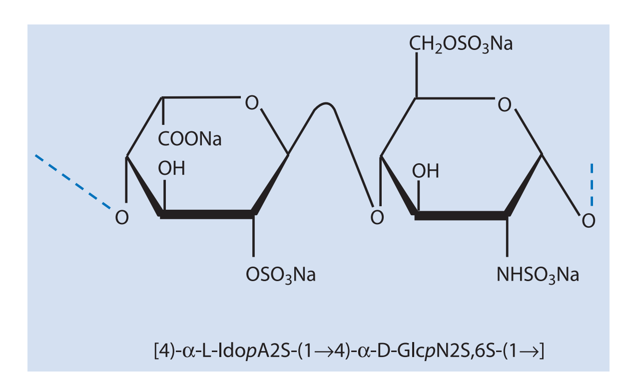



**Abb. 51.1.** Dominierende Disaccharideinheit von Heparin (~60%)

**Chemie.** Unfraktioniertes Heparin ist ein polydisperses Gemisch heterogener GAG-Moleküle mit einer relativen Molekülmasse ($M_r$) zwischen 5.000 und 30.000, wobei die mittlere $M_r$ bei etwa 13.000 liegt. Mit einem Sulfatierungsgrad (Zahl der Sulfatgruppen pro Monosaccharideinheit) von 1,0–1,25 ist es das GAG mit der größten negativen Ladungsdichte. Die Heterogenität beruht auf der Tatsache, dass 10 verschiedene Monosaccharide im Heparin vorkommen (Alban 2007). Hieraus resultieren vielfältige Kombinationsmöglichkeiten für die jeweils aus einem D-Glukosamin und einer L-Iduronsäure bzw. D-Glukuronsäure bestehenden Disaccharideinheiten. Die mit etwa 60% dominierende Grundeinheit ist [4)-α-L-Ido*p*A2S-(1→4)-α-D-Glc*p*N2S,6S-(1→] (Abb. 51.1). Die für die Bindung an Antithrombin (AT) erforderliche Pentasaccharidsequenz mit einem zentralen GlcN2S,3S,6S (»AT-binding site«) kommt je nach Herkunft, Extraktions- und Aufreinigungsverfahren sowie Charge in 30–50% der Moleküle einer Heparinpräparation vor (Béguin et al. 1999). Man bezeichnet diesen Anteil des UFH als »high-affinity material« (HAM) gegenüber dem »low-affinity material« (LAM) ohne die »AT-binding site«.

**Standardisierung.** Je nach Ausgangsmaterial und Herstellungsweise differieren die verschiedenen UFH-Präparationen beträchtlich in ihrer strukturellen Zusammensetzung und folglich in ihren antikoagulatorischen und anderen pharmakologischen Eigenschaften (Bianchini et al. 2007; Alban et al. 2007; Simonis et al. 2007). Außerdem sind bei diesen tierischen Extrakten Chargenvariabilitäten unvermeidbar. Um eine möglichst gleichbleibende antithrombotische Wirksamkeit zu gewährleisten, werden sie daher nicht in Milligramm, sondern nach ihrem In-vitro-Wirkwert quantifiziert. Für UFH hat man antikoagulatorische Einheiten (IE) definiert, wobei eine IE der blutgerinnungshemmenden Aktivität einer von der WHO festgelegten Menge des Internationalen Standards entspricht (derzeit »5th International Standard for Unfractionated Heparin«, NIBSC-Code: 97/578). Laut Definition (PhEur 6.0) muss parenteral angewandtes UFH eine spezifische antikoagulatorische Aktivität von mindestens 150 IE/mg besitzen.

**Präparate.** Laut »Rote Liste 2008« gibt es auf dem deutschen Arzneimittelmarkt nur noch 4 verschiedene Heparin-Natrium-Präparate (Heparin-Natrium Braun (B. BRAUN), Heparin-Natrium-Leo® (LEO Pharma), Heparin-Natrium-ratiopharm® (ratiopharm) und Heparin-Rotexmedica® (Rotexmedica) sowie 2 Heparin-Kalzium-Präparate (Calciparin® von Sanofi-Aventis und Heparin-Calcium-ratiopharm®). Sie werden in verschiedenen Konzentrationen und Volumina als Injektionslösung in Ampullen oder Durchstechflaschen angeboten; lediglich Heparin-Natrium-ratiopharm® und Heparin-Calcium-ratiopharm® stehen auch als Fertigspritzen mit 5.000 IE und 7.500 IE zur Verfügung.

### Niedermolekulare Heparine

**Entwicklung.** Mitte der 1970er-Jahre entdeckte man, dass kleine Heparinfragmente, die in vitro wie UFH eine hohe Anti-Faktor-Xa-(aXa-)Aktivität besaßen, die APTT aber kaum verlängerten, im Tierversuch sehr gut antithrombotisch wirksam waren, jedoch im Vergleich zu UFH ein deutlich vermindertes Blutungsrisiko zeigten (Andersson et al. 1976). Im Rahmen der Suche nach Alternativen zum UFH wurden daraufhin die niedermolekularen Heparine (NMH) entwickelt, die teilweise nun bereits seit mehr als 20 Jahren klinisch angewendet werden und sich mehr und mehr gegenüber UFH durchsetzen. International werden 9 verschiedene NMH klinisch eingesetzt: Ardeparin-Natrium, Bemiparin-Natrium, Certoparin-Natrium, Dalteparin-Natrium, Enoxaparin-Natrium, Nadroparin-Kalzium (!), Parnaparin-Natrium, Reviparin-Natrium und Tinzaparin-Natrium.

**Herstellung.** Die verschiedenen NMH werden durch partielle Depolymerisation aus UFH hergestellt, wobei jedes NMH nach einem individuellen Protokoll produziert wird (Alban 2005b). Prinzipiell lassen sich die Verfahren der Kettendegradation 4 Grundtypen zuordnen:

1. oxidative Desaminierung mit salpetriger Säure (Nadroparin, Dalteparin, Reviparin) bzw. Isoamylnitrit (Certoparin)
2. radikalische Oxidation mit $H_2O_2$ (Ardeparin) oder $H_2O_2$ und Kupfersalzen (Parnaparin)
3. alkalische β-Elimination ohne (Bemiparin) bzw. mit vorangehender Benzylierung (Enoxaparin)
4. enzymatische β-Elimination (Tinzaparin)

**Definition**

Die Definition von NMH im Europäischen Arzneibuch (PhEur 6.0) beschränkt sich auf wenige Kriterien zur Abgrenzung gegenüber UFH:
- NMH sind sulfatierte GAG mit einer mittleren $M_r$ <8.000, wobei mindestens 60% (m/m) ein $M_r$ <8.000 aufweisen.
- NMH weisen am reduzierenden oder nicht reduzierenden Ende der Polysaccharidketten unterschiedliche chemische Strukturen auf.
- Die aXa-Aktivität beträgt mindestens 70 IE/mg.
- Das Verhältnis der Anti-Xa- zur Antithrombinaktivität (aXa-aIIa-Ratio) liegt bei mindestens 1,5:1.



**Chemie.** Obwohl alle zugelassenen NMH die Arzneibuchanforderungen erfüllen, existieren je nach Herstellungsverfahren und dem als Ausgangsmaterial verwendeten UFH erhebliche strukturelle Unterschiede zwischen den einzelnen NMH. Diese betreffen die mittlere $M_r$ und die Molekülmassenverteilung (Abb. 51.2.), den Sulfatierungsgrad, die chemische Struktur an den Enden der Polysaccharidketten, den Gehalt an anderen GAG, herstellungsbedingte Artefakte (z. B. die 1,6-Anhydro-Strukturen am reduzierenden Ende der Enoxaparinmoleküle, die während der Degradation entstehen) und den Gehalt an Molekülen mit der »AT-binding site«, d. h. den Anteil an »high affinity material« (HAM). Da die »AT-binding site« bei der Degradation von UFH zum Teil zerstört wird, ist der Anteil an HAM bei den NMH in der Regel geringer und kann auf bis zu 10% reduziert sein (Béguin et al. 1999).

**Jedes NMH wird nach einem individuellen Protokoll produziert. Hieraus ergeben sich strukturelle Unterschiede zwischen den einzelnen Vertretern, die sich in ihren pharmakologischen Eigenschaften manifestieren und zum Teil klinisch relevant sein können.**

**Standardisierung.** Da die NMH wie UFH biogene Arzneistoffe mit entsprechenden Chargenvariabilitäten sind, werden auch sie nicht gravimetrisch, sondern nach ihrem In-vitro-Wirkwert quantifiziert. Wegen ihrer relativ schwachen antikoagulatorischen Effekte wird nicht die globale gerinnungshemmende Wirkung auf Zitratplasma (vgl. UFH) ermittelt, sondern die aXa-Aktivität (aXa-IE/mg; Abb. 51.3) als Wirkwert ermittelt. Diese wird in einem amidolytischen Test unter Verwendung von AT, FXa und einem chromogenen Substrat bestimmt, wobei derzeit der »2nd International Standard Low Molecular Weight Heparin« (NIBSC-Code: 97/578) als Referenz dient. Zusätzlich muss für jedes NMH in der Spezifikation seine analog bestimmte aIIa-Aktivität (aIIa-IE/mg) sowie die aXa-aIIa-Ratio (Abb. 51.3.) angegeben werden.

**Präparate.** In Deutschland sind von den 9 NMH 6 Präparate für individuell unterschiedliche Anwendungsgebiete (s.u.) zugelassen:

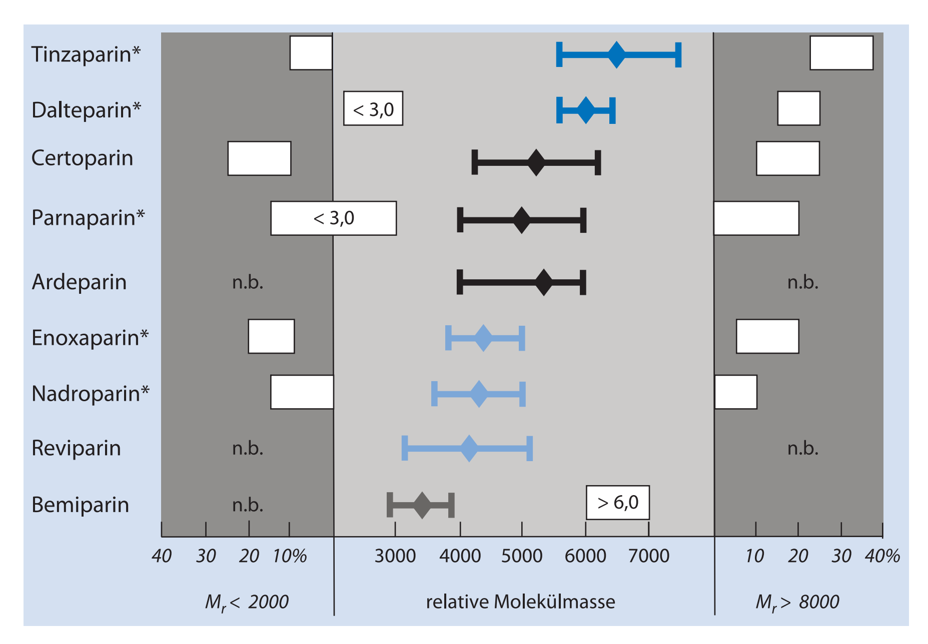



**Abb. 51.2.** Molekülmassenprofile der NMH. Dargestellt ist jeweils der Bereich der mittleren $M_r$ mit einem charakteristischen Wert (Raute). Ferner ist links der Bereich für den prozentualen Anteil (m/m) an Molekülen mit einer $M_r$ <2.000 und rechts an Molekülen mit einer $M_r$ >8.000 gezeigt. Bei Dalteparin und Parnaparin ist maximal ein Anteil von 13% bzw. 30% mit einer $M_r$ >3.000 erlaubt, Bemiparin darf maximal einen Anteil von 15% mit einer $M_r$ >6.000 enthalten. Die Angaben beruhen auf Spezifikationen bzw. Monographien der PhEur 6.0 (*) zu NMH. *n.b.* nicht bekannt

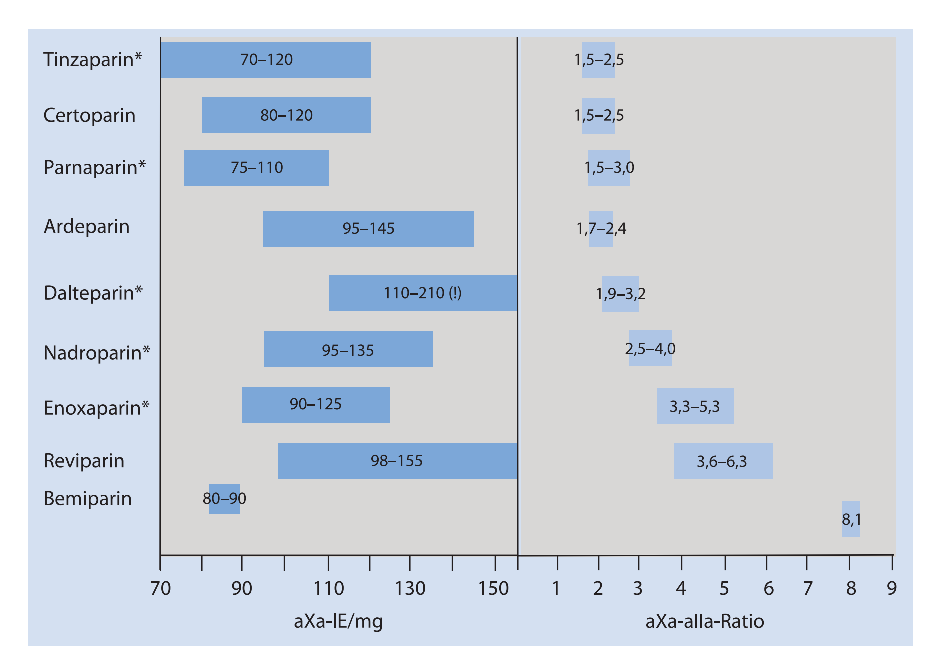



**Abb. 51.3.** AXa-Aktivität (aXa-IE/mg) und Verhältnis der aXa-Aktivität zur aIIa-Aktivität (aXa-aIIa-Ratio) der klinisch eingesetzten NMH. Die Angaben beruhen auf den Spezifikationen bzw. den Monographien der PhEur 6.0 (*). Die aXa-Aktivität eines NMH wird durch seinen Anteil an »high-affinity material« bestimmt. Die Werte für die aXa-aIIa-Ratio veranschaulichen, dass die verschiedenen NMH stark in ihrer $M_r$-abhängigen aIIa-Aktivität differieren. Die Schwankungsbreiten der aXa-Aktivität und der aXa-aIIa-Ratio demonstrieren die möglichen Chargenvariabilitäten der NMH. Die hohe aXa-Aktivität von Dalteparin von etwa 160 IE/mg wird durch ein besonderes Reinigungsverfahren erreicht, durch das inaktive Oligosaccharide entfernt werden. Bemiparin ist der erste Vertreter der 2. Generation von NMH. Diese besitzen eine mittlere $M_r$ <4.000 und der Anteil an Molekülen mit einer $M_r$ >6.000 beträgt <15%

- Certoparin-Natrium (Certoparin): Mono-Embolex® (Novartis Pharma)
- Dalteparin-Natrium (Dalteparin): Fragmin® (Pfizer)
- Enoxaparin-Natrium (Enoxaparin): Clexane® (Sanofi-Aventis)
- Nadroparin-Kalzium (Nadroparin): Fraxiparin®, FRAXODI® (GlaxoSmithKline)
- Reviparin-Natrium (Reviparin): Clivarin® (Abbott)
- Tinzaparin-Natrium (Tinzaparin): innohep® (Leo Pharma)

Alle NMH werden sowohl in Form von Sicherheitsfertigspritzen (bzw. Fertigspritzen bei Clivarin® und innohep®) unterschiedlicher Dosierung als auch als Multidose-Injektionslösung (mit Benzylalkohol bzw. bei Mono-Embolex® Chlorocresol als Konservierungsmittel) angeboten.

## Danaparoid-Natrium

**Herstellung und Chemie.** Danaparoid-Natrium (Danaparoid) ist eine komplexe Mischung partiell depolymerisierter GAG, die aus Schweinedarmmukosa gewonnen wird. Aufgrund seiner Verwendung als Antithrombotikum wurde es früher als Heparinoid bezeichnet. Danaparoid besteht zu ca. 84% aus niedermolekularem Heparansulfat, wobei ca. 4% eine hohe Affinität zu AT besitzen. Diese Moleküle enthalten die »AT-binding site«, weisen aber rechts und links der Pentasaccharidsequenz die Strukturmerkmale von Heparansulfat auf. Im Vergleich zu Heparin ist Heparansulfat mit einem Sulfatierungsgrad von 0,4–0,9 deutlich schwächer negativ geladen. Seine charakteristische Grundeinheit ist das unsulfatierte Disaccharid [4)-β-D-GlcpA-(1→4)-α-D-GlcpNAc-(1→]. Weitere Komponenten von Danaparoid sind 8,0–16,0% Dermatansulfat und maximal 8,5% Chondroitinsulfat. Seine mittlere $M_r$ liegt im Bereich von 4.000–7.000, maximal 13% (m/m) dürfen eine $M_r$ <2.000 aufweisen und maximal 19% (m/m) eine $M_r$ >8.000; als charakteristische $M_r$ werden Werte zwischen 6.000 und 6.600 angegeben.

**Standardisierung.** Wegen seiner variablen, komplexen Zusammensetzung kann auch Danaparoid nicht gravimetrisch dosiert werden. Wie die NMH wird es anhand seiner aXa-Aktivität quantifiziert, obwohl damit lediglich ca. 4% seiner Masse erfasst werden (Alban et al. 2007). Laut Definition (PhEur 6.0) besitzt Danaparoid-Natrium eine aXa-Aktivität von 11–17 aXa-E/mg (nicht IE!), eine aIIa-Aktivität von maximal 0,5 aIIa-E/mg und eine aXa-aIIa-Ratio ≥22.

**Präparat.** Danaparoid-Natrium ist als Organan® (Organon) in Deutschland seit 1998 zugelassen. Aufgrund seines ein-

geschränkten Anwendungsgebiets stellt es ein »Nischenprodukt« dar. Die Glasampullen enthalten jeweils 750 aXa-E (0,6 ml) Danaparoid.

### Fondaparinux-Natrium

**Entwicklung und Herstellung.** Die Entdeckung, dass nur ein Teil der Heparinmoleküle an AT bindet, ließ vermuten, dass eine spezifische Zuckersequenz hierfür verantwortlich ist. Diese Pentasaccharidstruktur wurde 1981 identifiziert (Choay et al. 1981). Es stellte sich die Frage, ob dieses Oligosaccharid allein ausreicht, FXa zu hemmen und antithrombotisch wirksam zu sein. 1983 gelang der Gruppe um J. Choay die Meisterleistung, die komplexe Pentasaccharidstruktur in 75 Stufen zu synthetisieren und seine AT-vermittelte selektive FXa-hemmende Aktivität zu belegen (Choay et al. 1983).



Trotz ihrer guten antithrombotischen Wirksamkeit im Tierversuch war die Substanz zunächst nur von akademischem Interesse. Zusammen mit etwa 100 weiteren Strukturvarianten ermöglichte sie die Aufklärung des zentralen Wirkmechanismus von Heparin auf molekularer Ebene (van Boeckel u. Petitout 1993; Alban 2004). Entscheidend für die Weiterentwicklung, und zwar letztlich des minimal modifizierten Originalpentasaccharids (syn. SR90107/Org31540, Fondaparinux-Natrium [Fondaparinux]; ◘ Abb. 51.4), waren das Anfang der 1990er-Jahre ins Bewusstsein gerückte Problem der heparininduzierten Thrombozytopenie Typ II (HIT-Typ II), Erkenntnisse zur HIT-Typ-II-Pathogenese und die dringende Nachfrage nach einer Alternative zu Heparin (Greinacher et al. 1995; Herbert et al. 1997).

Das Syntheseverfahren wurde sukzessive optimiert und umfasst heute ausgehend von Glukose und dem Disaccharid Zellobiose 51 Schritte. 1998 begann man mit einem umfangreichen Programm zur klinischen Phase-III-Prüfung, dessen Ergebnisse im Dezember 2001 (FDA) und im März 2002 (EMEA) zur Zulassung von Fondaparinux für die Prophylaxe venöser Thromboembolien (VTE) in der orthopädischen Chirurgie geführt haben.

**Innovation.** Obwohl die Einführung der NMH Mitte der 1980er-Jahre die antithrombotische Therapie entscheidend verbessert hat, gelten sie als polydisperse Produkte tierischen Ursprungs und auch hinsichtlich ihrer Wirksamkeit und Unbedenklichkeit nicht als ideale Arzneistoffe. Folglich stellt die Entwicklung neuer Antikoagulanzien ein wichtiges Thema industrieller Forschung dar.

Mit Fondaparinux wurde 2002 der erste selektiv wirkende Faktor-Xa-Inhibitor eingeführt. Angesichts der Zulassung des selektiven Faktor-Xa-Inhibitors Rivaroxaban (Xarelto®) und des selektiven Thrombininhibitors Dabigatranetexilat (Pradaxa®) 2008 und weiterer Kandidaten in der klinischen Entwicklung kündigt sich ein Paradigmenwechsel im Bereich der Antikoagulanzien an (► Kap. 51.2.1). Allerdings haben sich inzwischen auch die Zulassungsanforderungen erhöht, und wie bereits bei Fondaparinux ist die Wirksamkeit und Sicherheit neuer Arzneistoffe in klinischen Studien mit Tausenden von Patienten zu belegen.

Einen weiteren Meilenstein in der Arzneistoffentwicklung setzt Fondaparinux als der erste spezifisch wirkende Arzneistoff auf der Basis eines strukturell definierten, synthetisch hergestellten Oligosaccharids. Es ist somit erstmalig gelungen, ein Protokoll zur industriellen Synthese einer komplexen Glykanstruktur zu entwickeln. Sein Wirkmechanismus demonstriert, dass es möglich ist, spezifisch wirkende Arzneistoffe auf der Basis von Zucker zu entwickeln.

**Chemie.** Fondaparinux ist ein synthetisch hergestelltes, 8 Sulfatgruppen enthaltendes Pentasaccharid mit einer $M_r$ von 1.728 (◘ Abb. 51.4). Seine Struktur entspricht der »AT-binding site«, die in den Molekülen des »high-affinity«-Materials von Heparin zu finden ist. Eine Methylgruppe am reduzierenden Ende stabilisiert die $\alpha$-Konfiguration und verhindert unspezifische Reaktionen mit Plasmaproteinen.

**! Im Gegensatz zu den biogenen Arzneistoffen Heparin (UFH und NMH) und Danaparoid unterliegt Fondaparinux als synthetisch hergestelltes, chemisch definiertes Molekül keinerlei Chargenvariabilitäten. Deshalb kann es wie andere Arzneistoffe in Milligramm dosiert werden. Beim Monitoring darf es nicht in aXa-Einheiten umgerechnet werden.**

**Präparat.** Fondaparinux-Natrium ist als Arixtra® (GlaxoSmithKline) in Deutschland mittlerweile für ein breites Spektrum an Indikationen zugelassen (► Kap. 51.1.4). In Form von Sicherheitsfertigspritzen ist es in den Dosierungen 2,5 mg (0,5 ml) und 1,5 mg (0,3 ml) für die Prophylaxe sowie 5,0 mg (0,4 ml), 7,5 mg (0,6 ml) und 10,0 mg (0,8 ml) für die Therapie verfügbar.

### Idraparinux-Natrium

**Chemie.** Ausgehend von Fondaparinux als Leitstruktur wurde Idraparinux-Natrium (Idraparinux), ebenfalls ein AT-vermittelt wirkender selektiver FXa-Inhibitor, entwickelt (Petitou et al. 1997; Poletti u. Lay 2003). Bei diesem strukturanalogen Pentasaccharid mit 9 Sulfatgruppen ($M_r$ 1727) sind die N-Sulfat- und OH-Gruppen von Fondaparinux durch Methoxy- oder O-Sulfat-Gruppen ersetzt (◘ Abb. 51.4.). Wegen der fehlenden Aminogruppen ist es kein GAG im strengen Sinn, sondern ein GAG-Mimetikum. Die strukturellen Modifikationen vereinfachen nicht nur die Synthese, sondern beeinflussen auch seine pharmakologischen Eigenschaften (► Kap. 51.1.2). So besitzt Idraparinux (2,5 mg) eine extrem lange Halbwertszeit und muss daher nur einmal wöchentlich subkutan (s.c.) injiziert werden.

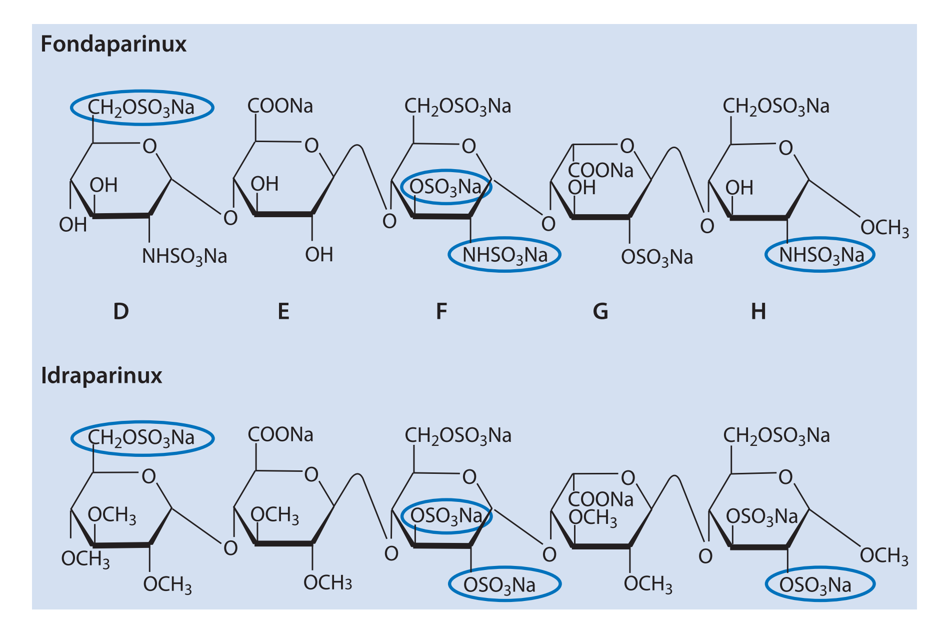



**Abb. 51.4.** Strukturformeln der synthetischen Pentasaccharide Fondaparinux und Idraparinux. Gekennzeichnet sind die für die Wirkung essenziellen Sulfatgruppen

**Klinische Entwicklung.** In den 3 Van-Gogh-Studien zur Sekundärprophylaxe nach venöser Thromboembolie (VTE) erwies sich eine 3- oder 6-monatige Therapie mit Idraparinux bei Patienten mit tiefen Venenthrombosen (TVT) als ebenso wirksam und sicher wie Warfarin, bei Lungenembolie-(LE-)Patienten war sie allerdings unterlegen (Van Gogh Investigators 2007a). Eine Idraparinuxgabe über eine Dauer von 12 Monaten zur VTE-Therapie sowie von 6–24 Monaten zur TE-Prophylaxe bei Vorhofflimmern war mit einem signifikant erhöhten Blutungsrisiko verbunden (Van Gogh Investigators 2007b; The Amadeus Investigators 2008).

**Biotinyliertes Idraparinux-Natrium.** Idraparinux wird durch Protamin, das klassische Heparinantidot, nicht neutralisiert, die lange Halbwertszeit und das beobachtete Blutungsrisiko erfordern jedoch die Verfügbarkeit eines Antidots. Zu diesem Zweck wurde SSR126517E, ein mit Biotin gekoppeltes Idraparinux, entwickelt. Es besitzt die gleichen pharmakologischen Eigenschaften wie Idraparinux. Aufgrund der hohen, spezifischen Affinität von Biotin zu Avidin, einem Hühnereiprotein, kann SSR126517E bei Bedarf mit rekombinantem Avidin antagonisiert werden. Nach intravenöser Gabe von Avidin entsteht unmittelbar ein inaktiver Komplex, der schnell eliminiert wird. SSR126517E wird derzeit in Phase-III-Studien zur Therapie der Lungenembolie und zur TE-Prophylaxe bei Vorhofflimmern geprüft.

### Heparinmimetikum SR123781A

Ein weiteres synthetisches GA ist das sulfatierte Hexadecasaccharid SR123781A (als Natriumsalz vorliegend), ein duales FXa- und Thrombininhibtor (Abb. 51.5; Herbert et al. 2001). Es besteht aus einem AT bindenden Pentasaccharid und einem Thrombin bindenden hochsulfatierten Tetrasaccharid, die über ein ungeladenes, methyliertes Heptasaccharid miteinander verknüpft sind. Wie Idraparinux enthält es keine Aminogruppen und ist somit ein GAG-Mimetikum bzw. ein Heparinmimetikum, denn es hemmt

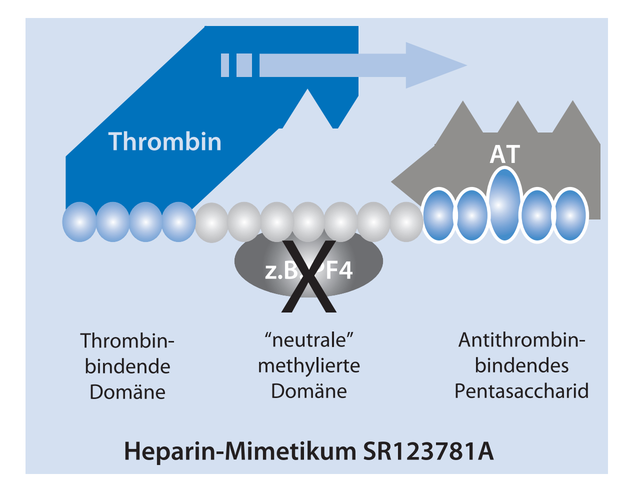



**Abb. 51.5.** Schematische Darstellung des Mechanismus der Thrombinhemmung durch das Heparinmimetikum SR123781A. Zwischen der hochsulfatierten thrombinbindenden Domäne und der »AT-binding site« des Hexadecasaccharids befindet sich ein Heptasaccharid aus methylierten Glukoseeinheiten, die eine Bindung des Moleküls an andere Plasmaproteine wie z. B. PF4 (Plättchenfaktor 4) verhindern

AT-abhängig nicht nur FXa (297±13 E/mg), sondern auch Thrombin (150±30 E/mg). Aktuell wird es in Phase-II- bzw. Phase-III-Studien zur Anwendung beim akuten Koronarsyndrom und zur VTE-Prophylaxe bei Hüftgelenkersatzoperationen geprüft.

### 51.1.2 Pharmakodynamik und Pharmakokinetik

Obwohl die GA im Detail stark in ihren pharmakologischen Eigenschaften differieren, ist ein Wirkprinzip bei allen zu finden: die Katalyse des endogenen Serinproteaseinhibitors (Serpin) Antithrombin (AT). Sie wirken sozusagen als »Bremskraftverstärker« der natürlichen »Gerinnungsbremse«. Damit imitieren sie eine der physiologischen Wirkungen des endogenen Antithrombotikums Heparansulfat (Liu et al. 2007). Während die synthetischen GA, d. h. Fondaparinux, Idraparinux und SR123781A, ausschließlich über diesen Mechanismus antithrombotisch wirken, sind bei den natürlichen GA, d. h. den Heparinen und Danaparoid, auch andere Effekte an der therapeutischen Wirksamkeit beteiligt.

51

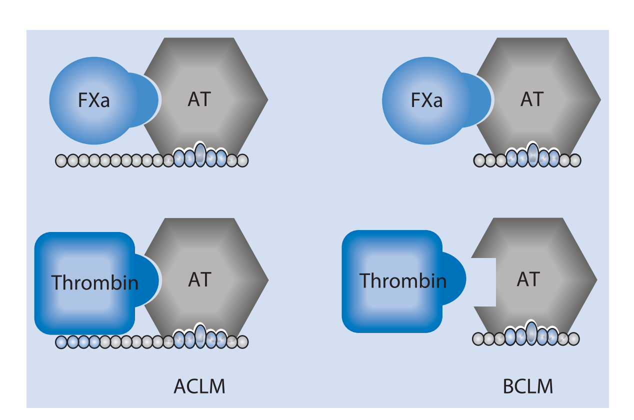
#### Antithrombinvermittelte Aktivitäten

**Katalysatorwirkung.** AT ist ein sogenannter »Progressivinhibitor«, denn es besitzt zwar eine hohe Affinität zu den meisten Serinproteasen des Gerinnungssystems, reagiert aber vergleichsweise langsam (▶ Kap. 26). Bindet ein GA-Molekül an AT, kommt es zu einer Konformationsänderung im AT (Björk et al. 1989). Durch die Exposition seiner reaktiven Schleife wird AT zum »Sofortinhibitor« mit einer um 2–3 Zehnerpotenzen höheren Reaktionsgeschwindigkeit gegenüber seinen Substraten (Kallikrein, FXIIa, FXIa, FIXa, FXa, Thrombin; Anmerkung: FVIIa wird nur in Gegenwart von Heparin durch AT gehemmt; Rosenberg 1994).

> **! Entscheidend für die antikoagulatorische Aktivität der GA ist die Beschleunigung der Hemmung von FXa und Thrombin durch AT, wobei diese im Fall von Thrombin um den Faktor 10 höher ist (Ofosu 1989).**

Die Wirkung der GA auf AT gleicht der eines Katalysators, denn sobald AT kovalent an das aktive Zentrum des Enzyms bindet, wird das GA-Molekül wieder freigesetzt und steht weiteren AT-Molekülen zur Verfügung.

**»AT-binding site«.** Der katalysierende Effekt von GA auf AT ist das Paradebeispiel für spezifische Interaktionen zwischen Glykanen und Proteinen (Mulloy 2005). Hierbei bindet eine strukturell definierte Pentasaccharidsequenz mit hoher Affinität an eine α-helikale, durch Lysin und Arginin charakterisierte Domäne im AT. Essenziell für die Bindung dieser »AT-binding site« sind 4 der 8 Sulfatgruppen in bestimmten Positionen (◘ Abb. 51.4.); die 3-O-Sulfatgruppe der zentralen Glukosamineinheit F kommt in genuinen Heparin- und Heparansulfatmolekülen ausschließlich in dieser Pentasaccharidsequenz vor (Lindahl et al. 1998).




◘ **Abb. 51.6.** Für die aXa- und aIIa-Aktivität eines Heparins ist das »high-affinity«-Material verantwortlich, d. h. die Moleküle, die die spezifische Pentasaccharidsequenz (»AT-binding site«) aufweisen, über die Heparin an AT bindet. Während für die Hemmung von FXa die alleinige Bindung an AT genügt, erfordert die Hemmung von Thrombin die gleichzeitige Bindung des Heparinmoleküls an AT und Thrombin. Aus sterischen Gründen sind hierzu nur Heparinmoleküle in der Lage, die aus mehr als 17 Monosaccharidbausteinen ($M_r$ ~5.400) bestehen. *ACLM* »above the critical chain length material«; *BCLM* »below the critical chain length material«

**Faktor-Xa- und Thrombinhemmung.** Der katalytische Effekt der GA auf die Enzymhemmung durch AT erfolgt über 2 unterschiedliche molekulare Mechanismen (Olson et al. 1992; ◘ Abb. 51.6). Für die beschleunigte Inaktivierung von FXa (sowie von Kallikrein und FXIIa) ist allein die Konformationsänderung verantwortlich, die durch die Bindung der Pentasaccharidsequenz an AT induziert wird. Für die Reaktion von AT mit Thrombin ist zwar auch die Bindung zwischen »AT-binding site« und AT erforderlich, die Beschleunigung basiert aber hauptsächlich darauf, dass das GA-Molekül sowohl an AT als auch an Thrombin bindet und dadurch die Reaktionspartner optimal ausgerichtet und einander näher bringt (»bridging«-Mechanismus). Aus sterischen Gründen erfordert die Bildung solcher ternärer Komplexe eine bestimmte Mindestkettenlänge: Heparinmoleküle müssen aus mehr als 17 Monosaccharideinheiten bestehen bzw. eine $M_r$ >5.400 aufweisen; bei synthetischen Oligosacchariden wurde bereits ab 15 Monosaccharideinheiten eine Thrombinhemmung beobachtet.

Untersuchungen mit synthetischen Oligosacchariden haben ferner gezeigt, dass sich die thrombinbindende Domäne an das nicht reduzierende Ende des AT-bindenden Pentasaccharids anschließt, (d. h. links von ihr nach konventioneller Darstellung; ◘ Abb. 51.6; Petitou et al. 1999a). Die Bindung an Thrombin ist rein ionischer Natur und in-

volviert nur 4–6 hochsulfatierte Monosaccharideinheiten. Die Einheiten zwischen der thrombin- und AT-bindenden Domäne sind nicht an der Bindung beteiligt, sondern überbrücken lediglich die notwendige Distanz und können daher ungeladen sein (Petitou et al. 1999b).

## Unfraktioniertes Heparin und niedermolekulare Heparine

### Pharmakodynamik

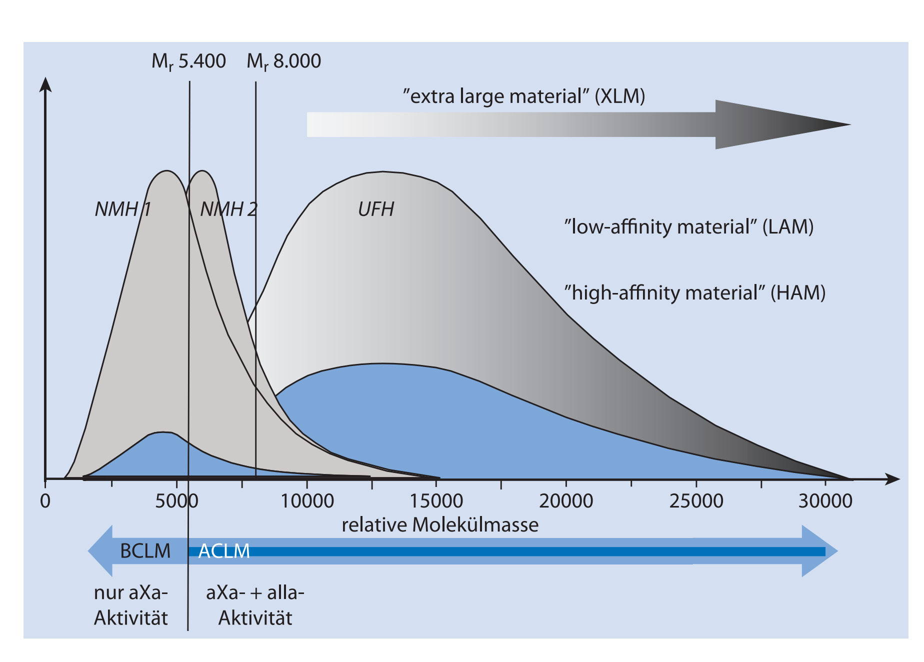
**Antithrombinvermittelte Aktivitäten.** Die Beschleunigung der FXa- und Thrombinhemmung durch AT wird als hauptverantwortlich für die antikoagulatorische Aktivität der Heparine angesehen. Die dazu erforderliche »AT-binding sites« besitzen jedoch nicht alle Moleküle einer Heparinpräparation, sodass bei UFH nur ein Anteil von 30–50% und bei den NMH von weniger als 20% diese Wirkung entfaltet. Der Gehalt an HAM bestimmt jeweils die in Einheiten angegebene aXa-Aktivität eines Heparins und bei UFH auch die aIIa-Aktivität. Der Vergleich verschiedener UFH-Präparationen ergab eine Bandbreite von 149–238 aXa-IE/mg (Bianchini et al. 2007), bei den verschiedenen NMH reicht sie von 70–210 aXa-IE/mg (◘ Abb. 51.3).

> **Cave**
>
> Die Einheiten von UFH, NMH und Danaparoid sind unterschiedlich definiert und nicht gleichzusetzen.

So besitzt eine 1 IE eines UFH im chromogenen Test eine geringere aXa-Aktivität als 1 aXa-IE eines NMH (Béguin et al. 1999). Die Einheiten (E) von Danaparoid werden mittels Danaparoid-Natrium CRS (Chemische Referenzsubstanz) als Referenzsubstanz in einem eigenen Testsystem (PhEur 6.0) bestimmt (Alban et al. 2007). Die aXa-Aktivität der NMH wird zwar einheitlich in einem plasmafreien chromogenen Test anhand des »2nd International Standard Low Molecular Weight Heparin« ermittelt, in Gegenwart von Blutplasma ergeben die verschiedenen NMH jedoch voneinander abweichende Kalibrierkurven.

**Reduzierte Antithrombinaktivität der NMH.** Während die aXa-aIIa-Ratio von UFH auf 1,0 festgelegt wurde, liegt sie bei den NMH laut Definition stets über 1,5. Die gegenüber der aXa-Aktivität um mindestens 33% geringere aIIa-Aktivität der NMH beruht auf der Tatsache, dass nur ein Teil der Moleküle des HAM die für die Thrombinhemmung erforderliche Mindestkettenlänge von 18 Monosaccharideinheiten besitzt. Während dieses sogenannte »above the critical chain length material« (ACLM) sowohl FXa als auch Thrombin hemmt, inhibiert das »below the critical chain length material« (BCLM) lediglich FXa (◘ Abb. 51.7).

In vitro haben die NMH zwar eine geringere aIIa-Aktivität als UFH, führen aber nach subkutaner Applikation gleicher aXa-Dosen ex vivo zu einer vergleichbaren bis stärkeren Hemmung von Thrombin sowie des »endogenen Thrombinpotenzials« (ETP; Alban u. Gastpar 2001; Al Dieri et al. 2006; siehe unter Pharmakokinetik). Folglich ist die geringere aIIa-Aktivität der NMH kein relevantes Unterscheidungsmerkmal zwischen UFH und den NMH.




◘ **Abb. 51.7.** Exemplarische Molekulargewichtsprofile von UFH und 2 NMH. *ACLM* »above the critical chain length material«;*BCLM* »below the critical chain length material«

**Antithrombinunabhängige Aktivitäten.** Obwohl der überwiegende Anteil der Heparinmoleküle nicht an AT bindet und somit keine aXa- und aIIa-Aktivität besitzt, ist höchstwahrscheinlich auch dieses LAM an der antithrombotischen Wirksamkeit der Heparine beteiligt. Tierexperimentell zeigte es sowohl eigene antithrombotische Effekte (Hamano et al. 1992; Gray et al. 1994) als auch eine potenzierende Wirkung auf die antithrombotische Aktivität des HAM (Barrowcliffe et al. 1984; Merton et al. 1984).

Es wurden eine ganz Reihe AT-unabhängiger Mechanismen identifiziert, die eine eigene antithrombotische Wirkung plausibel machen. Während manche Effekte, wie z. B. die Katalyse des endogenen Thrombininhibitors Heparin-Kofactor II (HCII), eher von marginaler Bedeutung sein dürften, sieht man in der Fähigkeit der Heparine, »tissue factor pathway inhibitor« (TFPI) vom Endothel freizusetzen, seine Biosynthese zu steigern und TFPI aus der Bindung an Lipoproteine im Plasma zu verdrängen, einen signifikanten Beitrag zur antithrombotischen Wirksamkeit (Valentin et al. 1992; Abildgaard 1992). Weitere diskutierte Mechanismen, die wie die TFPI-Mobilisierung nur in vivo zum Tragen kommen, sind beispielsweise profibrinolytische Effekte, die Antagonisierung von P-Selektin oder die Inhibierung prokoagulatorischer Funktionen von Leukozyten (Lindahl et al. 2006; Altieri 1995).

Die potenzierende Wirkung des »low affinity material« (LAM) beruht möglicherweise darauf, dass das ebenfalls stark negativ geladene LAM Bindungspartner, die mit AT um Heparin konkurrieren, absättigt. Dass das HAM in der Tat durch konkurrierende Proteine neutralisert wird, veranschaulicht die reduzierte In-vitro-Aktivität von Heparin in plättchenreichem und somit PF4-reichem gegenüber pättchenarmem Plasma (Bendetowicz et al. 1994). Letztendlich ist jedoch weder der umfassende antithrombotische Wirkmechanismus noch der jeweilige Anteil der einzelnen Wirkkomponenten geklärt.

**Multivalente Biomodulatoren.** Neben ihrer antikoagulatorischen bzw. antithrombotischen Wirkung verfügen Heparine über ein breites Spektrum an zusätzlichen pharmakologischen Aktivitäten wie etwa antiinflammtorische, antimetastatische, antiangiogenetische oder komplementhemmende Effekte (Smorenburg u. Van Norrden 2001; Ludwig et al. 2006). Dies erklärt sich aus ihrer strukturellen Verwandschaft mit Heparansulfat, das im Körper weit verbreitet als Bestandteil der extrazellulären Matrix (EZM) und der Glykokalyx der Zellen vorkommt. Heparansulfat zeigt eine ausgesprochene strukturelle Diversität und besitzt eine Vielfalt an regulatorischen Funktionen, indem es mit einer großen Zahl von Biomolekülen (Enzyme, Enzyminhibitoren, Wachstumsfaktoren, EZM-Proteine, Zytokine, Adhäsionsmoleküle und Rezeptorproteine) interagiert (Lindahl et al. 1998).

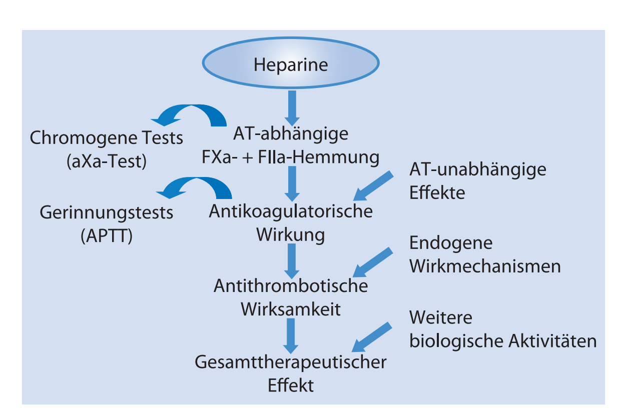



**Abb. 51.8.** Komplexe Pharmakologie der Heparine. *APTT* aktivierte partielle Thromboplastinzeit; *AT* Antithrombin

Wegen ihrer strukturellen Ähnlichkeit und hohen Ladungsdichte können Heparinmoleküle prinzipiell in alle Prozesse modulierend eingreifen, in die (patho-)physiologisch Heparansulfat involviert ist. Deshalb kann man Heparine auch als »multivalente Biomodulatoren« bezeichnen (Alban 2007). Die Annahme, dass auch solche »anderen« Aktivitäten zur gesamttherapeutischen Wirksamkeit der Heparine beitragen (Abb. 51.8), wird durch die Beobachtung untermauert, dass NMH unabhängig von ihrer antithrombotischen Wirkung die Überlebenszeit von Tumorpatienten verlängern (Büller et al. 2007).

## Pharmakokinetik

Die Pharmakokinetik der Heparine ist bis heute nicht geklärt, denn es gibt keine analytisch-chemischen Methoden zum Nachweis der komplexen GAG im Blut. Es sind lediglich Kinetiken ex vivo bestimmter pharmakodynamischer Effekte bekannt. Die Angaben beziehen sich bei UFH primär auf die Verlängerung der APTT (aktivierte partielle Thromboplastinzeit), bei den NMH auf die aXa-Aktivität, d. h. eine Wirkung des HAM, das jedoch weniger als 20% des verabreichten Heparins ausmacht (Abb. 51.9). Die limitierte Aussagekraft solcher Effektkinetiken wird angesichts der Tatsache deutlich, dass die Kinetiken verschiedener Parameter (z. B. aXa-, aIIa-Aktivität, Hemmung der Thrombinentstehung, Gerinnungszeitverlängerung in diversen Gerinnungstests, Freisetzung von TFPI) häufig nicht kongruent sind und sowohl in ihrer Intensität als auch ihrem zeitlichen Verlauf zusätzliche Unterschiede (neben der aXa-Kinetik) zwischen verschiedenen Heparinen ergeben können (Alban 2008a).

**Unfraktioniertes Heparin.** Alle Heparine müssen parenteral appliziert werden, da die ausgesprochen hydrophilen Polyanionen nicht aus dem Gastrointestinaltrakt resorbiert werden. Die apparente Bioverfügbarkeit von UFH nach s. c.-Injektion ist mit etwa 10–30% sehr gering, steigt mit

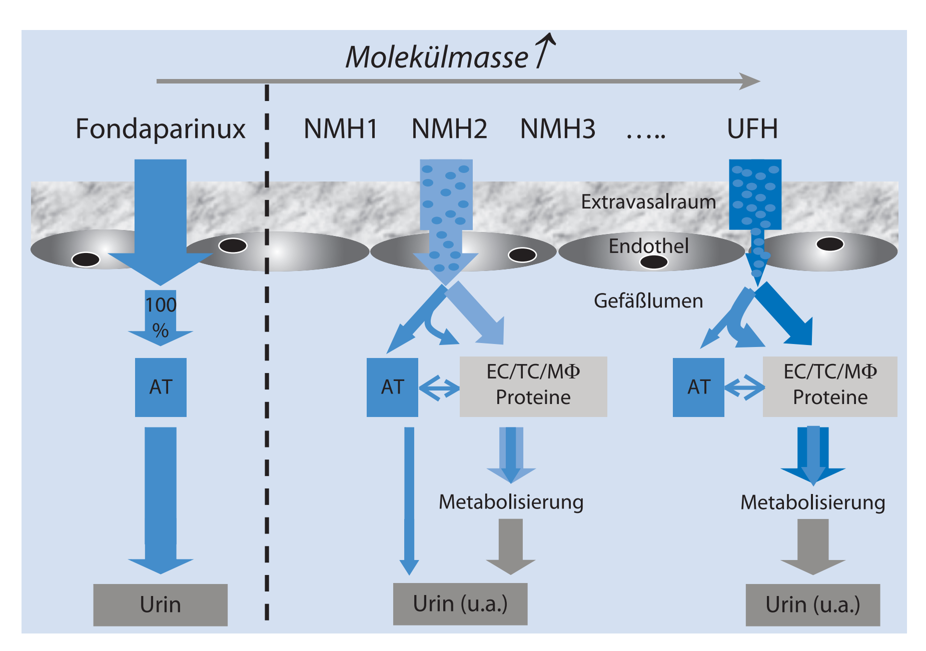



**Abb. 51.9.** Vereinfachtes Schema der Pharmakokinetik der Heparine (UFH und NMH) im Vergleich zu Fondaparinux. *EC* Endothelzellen; *TC* Thrombozyten; *MΦ* Makrophagen

zunehmender Dosis und schwankt inter- und auch intraindividuell erheblich (Hirsh u. Raschke 2004).

> **Bei gesunden Probanden ist nach etwa 2–4 h die APTT maximal verlängert, die Halbwertszeit schwankt zwischen 1 und 4 h.**

Ausschlaggebend für die geringe Bioverfügbarkeit ist das sogenannte »extra large material« (XLM; $M_r$ >10.000), dessen langen Ketten aufgrund ihrer zahlreichen Ladungen im Gewebe »hängen bleiben« und teilweise auch nach Resorption intravaskulär sofort ans Endothel, an Blutzellen und Plasmaproteine (u. a. LDL, Globuline, Fibrinogen) binden. Mit steigender Dosis werden die alternativen Bindungspartner zunehmend abgesättigt, sodass die apparente s.c.-Bioverfügbarkeit steigt.

Auch bei i.v.-Gabe reduzieren die vielfältigen Bindungen die antikoagulatorische Wirkung von UFH und sind für die große intra- und interindividuelle Variabilität verantwortlich. Bei Intensivpatienten mit hohen Spiegeln an Akute-Phase-Proteinen können solche Bindungen sogar das Laborphänomen einer AT-unabhängigen Heparinresistenz hervorrufen (Hirsh u. Raschke 2004). Nach Injektion eines i.v.-Bolus ist eine biphasische Elimination zu beobachten mit einer ersten schnellen, sättigbaren und damit dosisabhängigen Phase und einer zweiten langsameren Elimination nach einem Mechanismus erster Ordnung (siehe NMH).

In der ersten Phase finden Prozesse statt, die zum Teil auch für die geringe s.c.-Bioverfügbarkeit verantwortlich sind, nämlich die sehr schnelle Bindung der extralangen Ketten an Plasmaproteine, das Endothel und Blutzellen. Da die Bindungskapazitäten begrenzt sind, tritt bei Steigerung der Dosis zunehmend der zweite Eliminationsweg in den Vordergrund. Dies führt zu einem nichtlinearen Anstieg der Intensität und der Dauer des antikoagulatorischen Effekts. Nach i.v.-Injektion von 25 IE/kgKG, 100 IE/kgKG und 400 IE/kgKG UFH verlängerte sich beispielsweise die apparente Halbwertszeit von 0,5 auf 1 h und schließlich auf 2,5 h. UFH wird vor der Ausscheidung durch partielle Depolymerisation und Desulfatierung in Zellen des mononukleären Phagozytensystems (MPS, früher RES) metabolisiert und so vollständig inaktiviert. Etwa die Hälfte der Abbauprodukte wurde wie bei den UFH im Urin gefunden (Frydman 1996).

**Niedermolekulare Heparine.** Die pharmakokinetischen Unterschiede der NMH gegenüber UFH sind im Wesentlichen auf die Abwesenheit des XLM zurückzuführen (Alban 2008a). Im Gegensatz zu UFH beträgt ihre Bioverfügbarkeit nach s.c.-Applikation präparatabhängig 85–98% (laut aXa-Aktivität). Sie zeigen ein lineares pharmakokinetisches Profil, d. h. die aXa-Aktivität im Plasma steigt proportional zur Dosis. Außerdem sind die interindividuellen Schwankungen deutlich geringer als bei UFH (Al Dieri et al. 2006).

> **Maximale aXa-Plasmaspiegel werden durchschnittlich nach 3–4 h erreicht, die Angaben reichen von 2,5 h für Bemiparin bis zu 3–5 h für Enoxaparin.**

Das Verteilungsvolumen ist dosisunabhängig und entspricht ungefähr dem Blutvolumen. Die apparente Halb-

wertszeit ist etwa doppelt so lang wie die von UFH und liegt im Mittel bei 3–5 h nach einmaliger s.c.-Injektion; nach wiederholter Gabe kann sie weiter ansteigen (z. B. von 4,4 h auf ca. 7 h bei Enoxaparin). Nach i.v.-Injektion, die allerdings bei den NMH nicht offiziell praktiziert wird, beträgt die Halbwertszeit etwa 2 h.

Die Elimination erfolgt prinzipiell ähnlich wie bei UFH mit dem Unterschied, dass die erste, schnelle Phase entfällt (Frydman 1996). Auch die NMH werden vor der Ausscheidung überwiegend durch Makrophagen in der Leber und anderen Organen metabolisiert. Im Gegensatz zu UFH, wird jedoch ein geringer, individuell unterschiedlicher Anteil (siehe unten) unverändert und somit in aktiver Form renal ausgeschieden (Abb. 51.9). Dieses Phänomen erklärt, dass die NMH im Gegensatz zu UFH bei eingeschränkter Nierenfunktion mehr oder weniger stark zur Akkumulation neigen.



Da die Ergebnisse pharmakokinetischer Untersuchungen zu einem NMH von Studie zu Studie zum Teil deutlich differieren und die einzelnen Präparate qualitativ und quantitativ unterschiedlich gut untersucht sind, sind Produktangaben zur Pharmakokinetik eines NMH jeweils als individuelle Charakteristika zu sehen und nicht ohne Weiteres mit denen anderer vergleichbar. Pharmakokinetische Studien, in denen gleichzeitig mehrere Heparine untersucht wurden, zeigen jedoch, dass die verschiedenen NMH sich in ihren pharmakokinetischen Eigenschaften unterscheiden und dass hierbei das Molekülmassenprofil bzw. die Kettenlänge ein entscheidender Parameter ist (Eriksson et al. 1995; Collignon et al. 1995; Samama u. Gerotziafas 2000; Alban u. Gaspar 2001; Cambus et al. 2002; Depasse et al. 2003).

**! Die polydispersen Molekülgemische der NMH werden in vivo »fraktioniert«. Je länger die Moleküle sind, desto langsamer werden sie nach s.c.-Injektion resorbiert und desto schneller eliminiert.**

Die Abhängigkeit der Kinetik von der Kettenlänge veranschaulichen nicht nur die apparente Halbwertszeit und Verweildauer (aXa-Aktivität) der verschiedenen NMH, sondern auch die der beiden Extreme, UFH und Fondaparinux (Abb. 51.1 und 51.9). Da jedes NMH allerdings ein polydisperses GAG-Gemisch darstellt, repräsentieren die Kinetikparamater, die anhand der aXa-Plasmaspiegel ermittelt werden, stets nur grobe Mittelwerte für das HAM eines NMH. De facto wird aber jedes NMH sozusagen in vivo »fraktioniert«. Zu erkennen ist dies u. a. an der diskrepanten Kinetik seiner aXa- und aIIa-Aktivität sowie dem zeitlichen Verlauf der aXa-aIIa-Ratio, die initial sehr hoch ist, dann auf ein Minimum absinkt und anschließend wieder ansteigt (Alban 2008a). Darüber hinaus verdeutlichen die Werte der aXa-aIIa-Ratio, die ex vivo auch im Minimum etwas höher als in vitro sind, dass es auch bei den NMH die jeweils längsten Ketten sind, die nicht resorbiert werden. Die differenzierte, vom jeweiligen Molekülmassenprofil abhängige Invasion und Elimination der NMH macht verständlich, dass die verschiedenen Präparate zu unterschiedlichen maximalen Plasmaspiegeln führen.

### Unterschiede zwischen UFH und NMH

Alle NMH verfügen über einige Gemeinsamkeiten, die sie eindeutig von UFH abgrenzen lassen (Tab. 51.1).

**! Alle relevanten pharmakodynamischen und -kinetischen Unterschiede zwischen UFH und den NMH sowie die klinischen Vorteile der NMH basieren letztendlich auf der Tatsache, dass NMH im Gegensatz zu UFH kein »extra large material« (XLM), d. h. Moleküle mit einer Mr >10.000 enthalten (Abb. 51.7; Alban 2008a). Demgegenüber hat die in vitro reduzierte aIIa-Aktivität der NMH in vivo keine Bedeutung.**

Das stark negativ geladene XLM von UFH hat eine ausgeprägte Tendenz, an extravaskuläre Strukturen (nach s.c.-Injektion), Plasmaproteine, Plättchen, Endothel- und Blutzellen und Makrophagen zu binden, obwohl die Moleküle die »AT-binding site« enthalten (daher oft als »unspezifische« Bindungen bezeichnet; Hirsh u. Raschke 2004).

**Pharmakokinetik und Anwendung.** Diese sogenannten »unspezifischen« Bindungen des XLM sind maßgeblich für die pharmakokinetischen Unterschiede zwischen UFH und NMH verantwortlich. Diese Unterschiede bedingen einige der entscheidenden praxisrelevanten Vorteile der NMH gegenüber UFH. Denn während UFH i.v. (Therapie) bzw. 2- bis 3-mal täglich s.c. (Prophylaxe) verabreicht werden muss und die therapeutische Dosis anhand der APTT-Verlängerung anzupassen ist, erlauben die gute s.c.-Bioverfügbarkeit und die längere Halbwertszeit der NMH (s. Pharmakokinetik) die 1-bis 2-mal tägliche s.c.-Applikation bei allen Indikationen. Ferner ist wegen der geringeren interindividuellen Variabilität normalerweise keine Dosisadjustierung anhand von Laborparametern erforderlich, sodass die NMH auch sehr gut für die ambulante Anwendung geeignet sind.

**Pharmakodynamik und unerwünschte Wirkungen.** Das Fehlen des XLM und die resultierende verminderte Bindungstendenz der NMH bewirken auch, dass sie im Vergleich zu UFH praktisch keinen Einfluss auf die Thrombozytenadhäsion und -aggregation haben und weniger PF4 freisetzen. Dies und auch ihre schwächere Neigung, mit PF4 Komplexe und somit das HIT-Typ-II-Antigen zu bilden, erklärt, dass die HIT-Typ-II-Inzidenz im Vergleich zu UFH um etwa den Faktor 10 niedriger ist (Lee u. Warkentin 2007; ▶ Kap. 51.1.5). Auch andere unerwünschte Wirkungen wie Osteoporose, Kontaktdermatitis, Haarausfall

**Tab. 51.1.** Vergleich zwischen UFH, NMH und Fondaparinux

| | UFH | NMH | Fondaparinux |
|---|---|---|---|
| **Arzneistoffcharakteristika** | | | |
| Molekülmasse ($M_r$) | 5.000–30.000 | 1.000–10.000 (60% < 8.000)[a] | 5.000–30.000 |
| Herstellung | Isolation aus Schweinedarmmukosa | Chemische oder enzymatische Degradation von UFH[a] | Chemische Synthese |
| Chemie | Komplexe Mischung hochsulfatierter Glykosaminoglykane → Chargenvariabilität | Komplexe Mischung hochsulfatierter Glykosaminoglykane → Chargenvariabilität | Chemisch definiertes Pentasaccharid mit 8 Sulfatgruppen → keine Chargenvariabilität |
| Anteil HAM (%) | 30–50 | <20[a] | 100 |
| Quantifizierung | Antikoagulatorische Aktivität (IE), Bezug: »5th International Standard of UFH« | Anti-Faktor-Xa-Aktivität (aXa-IE), Bezug: »2nd International Standard of LMWH« | Gravimetrisch (mg) |
| **Pharmakodynamik** | | | |
| Wirkmechanismus | – AT-vermittelte FXa- u. Thrombinhemmung<br>– aXa-alla-Ratio 1,0<br>– vielfältige AT-unabhängige Aktivitäten | – AT-vermittelte FXa- u. Thrombinhemmung<br>– aXa-alla-Ratio ≥1,5[a]<br>– vielfältige AT-unabhängige Aktivitäten | Selektive AT-vermittelte FXa-Hemmung |
| Sensitivität gegenüber AT-Plasmaspiegel | Hoch | Mittel | Gering |
| Affinität zu Plasmaproteinen, Endothel-, Blutzellen, Makrophagen | Ja (+++) | Ja (+) | Nein |
| Interaktionen mit Plättchen | Ja (+++) | Ja (+) | Nein |
| Neutralisation durch PF4 | Ja (+++) | Ja (+) ($M_r$>6.000)[a] | Nein |
| HIT-Typ-II-Risiko [%] | ~0,5–5 | ~0,05–0,5 | Nein |
| Kreuzreaktivität mit HIT-Antikörpern [%] | 100 | ~85 | 0 |
| **Pharmakokinetik** | | | |
| Bioverfügbarkeit (s.c. [%]) | 10–30 (APTT) | 85–98[a] (aXa-Aktivität) | 100 |
| $t_{max}$ (s.c.) | Sehr variabel (1,5–4 h) | 3–4 h[a] | 2 h |
| Halbwertszeit (s.c.) | Sehr variabel (1–4 h) | 3–5 h[a,b] | 17–21 h |
| Pharmakokinetisches Profil | Nicht linear (stark dosisabhängig), hohe inter- und intraindividuelle Variabilität | Linear (dosisunabhängig), moderate interindividuelle Variabilität | Linear (dosisunabhängig), moderate interindividuelle Variabilität |
| Metabolisierung | Degradation, Desulfatierung → komplette Inaktivierung | Degradation, Desulfatierung → Inaktivierung ≥90%[a] | Keine Metabolisierung |
| Exkretion | Urin, Fäzes | Urin (≤10% unverändert[a]), Fäzes | Urin (unverändert) |
| **Anwendung** | | | |
| Akkumulationsneigung bei Nierenfunktionsstörungen ▼ | Nein | Unterschiedlich | Ja |

**Tab. 51.1** (Fortsetzung)

| | UFH | NMH | Fondaparinux |
|---|---|---|---|
| VTE-Prophylaxe | 2- bis 3-mal tgl. s.c.-Injektion | 1-mal tgl. s.c.-Injektion | 1-mal tgl. s.c.-Injektion |
| | Tagesdosis ~ 15,000 IU | Dosierung Tab. 51.4 | Fixed Dose: 2,5 mg[c] |
| VTE-Therapie | i.v.-Bolus, i.v.-Infusion | 1- oder 2-mal tgl. s.c.-Injektion[a] | 1-mal tgl. s.c.-Injektion |
| | Dosierung APTT-adjustiert | Dosierung Tab. 51.5 | Fixed Dose: 7,5 mg[d] |
| Routinemonitoring | Plättchenzahl, APTT zur Dosisanpassung | Plättchenzahl, aXa-Aktivität in best. Fällen | Nein |
| Neutralisierbarkeit durch Protamin | 100% | aXa-Aktivität: 50–85%[a]<br>aIIa-Aktivität: 100% | 0% |

[a] Unterschiedlich je nach NMH; [b] Fachinformation zu Tinzaparin: Halbwertszeit 80 min bezieht sich auf die nur bei diesem NMH beobachtete schnellere, initiale Phase der Elimination; [c] 1,5 mg bei Kreatinin-Clearance 20–50 ml/min; [d] bei Körpergewicht <50 kg: 5 mg, >100 kg: 10 mg

oder der Anstieg der Konzentration an freien Fettsäuren durch Steigerung der Lipoproteinlipaseaktivität beruhen letztlich auf Interaktionen mit Zellen und Proteinen und treten unter den NMH entsprechend seltener auf. Ob jedoch das tendenziell verringerte Blutungsrisiko der NMH (Dolovich et al. 2000) pharmakodynamisch bedingt ist oder sich nur aus der besseren Steuerbarkeit ergibt, ist nicht geklärt.

**Antagonisierbarkeit.** Ein weiterer Unterschied zwischen den NMH und UFH ist die nur partielle Antagonisierbarkeit der aXa-Aktivität der NMH durch Protamin, das klassische Heparinantidot. Protamin ist ein stark positiv geladenes Protein, das unspezifisch mit negativ geladenen Strukturen reagiert. Während die aXa-Aktivität je nach NMH nur zu 37–81% durch Protamin aufgehoben wird, wird die aIIa-Aktivität vollständig neutralisiert. Demzufolge findet Protamin bei Molekülen mit einer $M_r$ >5.400 genügend »Andockstellen«, eine Bindung an AT und Thrombin zu verhindern. Bei kleineren Molekülen, die nur FXa hemmen, sind die unspezifischen Interaktionen hingegen zu schwach, die starke spezifische Bindung an AT zu überwinden.

## Diversität der niedermolekularen Heparine

**! Trotz ihrer Gemeinsamkeiten gegenüber UFH gibt es zwischen den einzelnen NMH deutliche pharmakologische Unterschiede. Laut WHO, FDA, EMEA und verschiedener Fachgesellschaften ist infolgedessen jedes NMH als individueller Arzneistoff zu betrachten, der nicht ohne Weiteres gegen einen anderen ausgetauscht werden kann.**

Da jedes NMH nach einem individuellen Verfahren hergestellt wird, differieren sie in diversen strukturellen Parametern (▶ Kap. 51.1.1, Abb. 51.2). Die strukturellen Unterschiede wiederum sind die Ursache, dass die NMH voneinander abweichende pharmakodynamische und pharmakokinetische Eigenschaften aufweisen, die durchaus klinisch relevant sein können.

**Antithrombinvermittelte Aktivitäten.** Ein bereits anhand der Spezifikation der verschiedenen NMH erkennbarer Unterschied betrifft die AT-vermittelte aXa- und aIIa-Aktivität (Abb. 51.3). Die vom HAM-Gehalt bestimmte aXa-Aktivität liegt zwischen 70 und 210 aXa-IE/mg. Die aXa-aIIa-Ratio, die von der Molekülmassenverteilung des HAM abhängt, reicht von 1,5 für größere NMH wie Tinzaparin bis zu 8,1 für Bemiparin, das kleinste NMH. Dies bedeutet, dass eine Dosis von 3.500 aXa-IE Tinzaparin oder 3.000 aXa-IE Certoparin gleichzeitig eine aIIa-Aktivität von etwa 1500 aIIa-IE besitzt, während die aIIa-Aktivität einer Dosis von 4.000 aXa-IE Enoxaparin oder Bemiparin nur etwa 1.000 bzw. 500 aIIa-IE beträgt.

**Antithrombinunabhängige Aktivitäten.** Auch hinsichtlich anderer, AT-unabhängiger Aktivitäten können die NMH differieren. Interessant ist der Nachweis, dass gleiche aXa-Dosen verschiedener NMH beispielsweise zu signifkanten Unterschieden in der Mobilisierung von TFPI, der Antagonisierung von P-Selektin und der antimetastatischenAktivität führten (Literatur bei Alban 2008a). Folglich besitzt jedes NMH ein individuelles pharmakodynamisches Profil, was allerdings bei der Anwendung, d. h. der Dosierung in aXa-Einheiten und dem aXa-Monitoring nicht berücksichtigt wird. Auch Fragen, ob beispielsweise alle NMH einen überlebenszeitverlängernden Effekt bei Tumorpatienten haben, sind ungeklärt.

**Pharmakokinetik.** Da jedes NMH ferner ein individuelles phamakokinetisches Profil besitzt, kann die Injektion numerisch gleicher aXa-Dosen zu signifikant unterschiedlichen aXa-Plasmaspiegeln beim Monitoring und noch

stärker voneinander abweichenden AUC (»area under the curve«) führen (siehe Übersicht).

**Mittlere aXa-Plasmaspiegel 4 h nach s.c.-Injektion therapeutischer NMH-Dosen**

- Certoparin: 2-mal täglich 8.000 aXa-IE, → 1,0 aXa-IE/ml
- Dalteparin: 1-mal täglich 200 aXa-IE/kgKG, → 1,05 aXa-IE/ml
- Enoxaparin: 2-mal täglich 1 mg/kgKG, → 1,2 aXa-IE/ml
- Nadroparin:
  - 1-mal täglich 180 aXa-IE/kgIG, → 1,3 aXa-IE/ml
  - 2-mal täglich 90 aXa-IE/kgKG, → 1,0 aXa-IE/ml
- Tinazparin: 1-mal täglich 175 aXa-IE/kgKG, → 0,85 aXa-IE/ml

Ungeachtet dessen sind die aXa-Plasmaspiegel als individuelle Größen zu betrachten und hinsichtlich ihrer Wirksamkeit und Sicherheit nicht vergleichbar, da die aXa-Aktivität nur einen der beteiligten Wirkmechanismen repräsentiert (◘ Abb. 51.8). So ist beispielsweise nach Gabe gleicher aXa-Dosen die aXa-Aktivität ex vivo kleiner NMH in der Regel höher als die der größeren NMH, ihre aIIa-Aktivität jedoch deutlich niedriger.

**Elimination in aktiver Form.** Im Gegensatz zu UFH werden geringe Anteile der NMH in aktiver Form über die Niere ausgeschieden, sodass es bei eingeschränkter Nierenfunktion zur Akkumulation kommen kann. Angesichts der renalen Elimination von Fondaparinux in unveränderter Form ist anzunehmen, dass es auch bei den NMH die kleinen AT-bindenden Oligosaccharide sind, die aufgrund ihrer starken Affinität zu AT einer Aufnahme in die Makrophagen und somit einer Metabolisierung entgehen (◘ Abb. 51.9). Der unterschiedliche Gehalt der NMH an kurzkettigen Oligosacchariden (◘ Abb. 51.2) lässt zum einen plausibel erscheinen, dass die aXa-Aktivität im Urin zwischen den NMH differiert (~10% der Dosis bei Enoxaparin, ~5% bei Certoparin, ~3% bei Dalteparin) und zum anderen klinischen Daten zufolge nicht alle NMH im gleichen Ausmaß akkumulieren (Lim et al. 2006). Während Enoxaparin und Nadroparin eine ausgeprägte Tendenz zur Akkumulation besitzen und wegen des erhöhten Blutungsrisikos entsprechende Restriktionen in der Anwendung erfordern (▶ Kap. 51.1.4), wurde für die relativ großen NMH Dalteparin und Tinzaparin keine klinisch relevante Akkumulation nachgewiesen.

Analog erklären sich widersprüchliche pharmakokinetische Daten bei Schwangeren, die typischerweise eine erhöhte renale Clearance aufweisen: Die Halbwertszeit von Reviparin und Enoxaparin ist verkürzt, sodass eine 2-mal statt 1-mal tägliche Gabe empfohlen wird. Demgegenüber wurde bei Tinzaparin und Dalteparin keine Veränderung der Halbwertszeit festgestellt. Die erhöhte renale Clearance führt offensichtlich nur bei den NMH zu einer beschleunigten Elimination, bei denen die renale Ausscheidung in aktiver Form relativ hoch ist.

**Antagonisierbarkeit.** Während die aIIa-Aktivität aller NMH vollständig durch Protamin aufgehoben wird, schwankt das Ausmaß der Neutralisierbarkeit der aXa-Aktivität der verschiedenen NMH zwischen 37 und 81%. Der Anteil eines NMH, der folglich nicht neutralisiert wird, gehört zum BCLM (d. h. $M_r$ <5.400). Die Neutralisation der NMH ist umso schlechter, je höher ihre aXa-aIIa-Ratio ist (◘ Abb. 51.3) bzw. je höher der Anteil des BCLM am HAM ist. Allerdings wird nur ein Teil des BCLM nicht neutralisiert. Das BCLM ist selbst polydispers zusammengesetzt und besteht auf Heparinmolekülen mit einer Kettenlänge von 5–17 Monosacchariden. Da die Kettenlänge ein entscheidender Parameter für die Komplexbildung mit Protamin ist, sind es vorzugsweise die kleinen Oligosaccharide (vgl. Fondaparinux), die nicht von Protamin gebunden werden. Ihr prozentualer Anteil am HAM bestimmt also das Ausmaß der Resistenz eines NMH gegenüber Protamin (siehe Übersicht).

**Grad der Neutralisierung der aXa-Aktivität von NMH durch Protamin in vitro**

- Reviparin: 37%
- Enoxaparin: 46%
- Nadroparin: 51%
- Dalteparin: 59%
- Tinzaparin: 81%

Aus der unterschiedlichen Antagonisierbarkeit resultiert, dass für jedes NMH individuelle Dosierungsangaben zur Anwendung von Protamin existieren.

**Klinisches Profil.** Mangels entsprechender klinischer Vergleichsstudien lässt sich nicht beurteilen, ob es zwischen den einzelnen NMH auch Unterschiede in der Wirksamkeit und Sicherheit gibt. Nichtsdestotrotz hat jedes NMH sein eigenes klinisches Profil: Dies betrifft das Spektrum der zugelassenen Indikationen (▶ Kap. 51.1.3) sowie die jeweilige klinische Evidenz zum Einsatz bei besonderen Patientengruppen (z. B. Schwangere, Kinder, ältere Patienten, Patienten mit Nierenfunktionsstörungen oder Patienten mit Über- oder Untergewicht) und noch nicht zugelassenen Indikationen (z. B. Vorhofflimmern, Tumorerkrankungen). Darüber hinaus ist nicht nur die aXa-IE eines jeden NMH

eine individuelle Größe, sondern auch die vorgeschriebenen Dosierungen und Dosierungsregimes sind individuelle Parameter (▶ Kap. 51.1.4), die auf Ergebnissen der jeweiligen klinischen Entwicklung basieren. Jedes NMH sollte in der Art und Weise angewendet werden, in der seine Wirksamkeit und Sicherheit belegt worden ist.

### Danaparoid-Natrium

#### Pharmakodynamik

Die aXa-Aktivität von Danaparoid wird durch die Fraktion an AT-bindendem Heparansulfat vermittelt, die nur etwa 4% beträgt. Sie ist mit 11–17 E/mg relativ niedrig. Angesichts seiner mittleren $M_r$, die im Bereich der $M_r$ der NMH liegt, ist die AT-vermittelte aIIa-Aktivität mit maximal 0,5 E/mg sehr viel geringer als erwartet und die aXa-aIIa-Ratio mit ≥22 entsprechend deutlich höher als die der NMH. Entweder sind >90% der AT-affinen Heparansulfatmoleküle kürzer als 18 Monosaccharideinheiten oder ihr geringerer Sulfatierungsgrad ist dafür verantwortlich. Denn die an Thrombin bindenden Monosaccharide müssen stark negativ geladen sein. Da aber Heparansulfat außerhalb der Pentasaccharidsequenz im Vergleich zu Heparin nur schwach sulfatiert ist (Sulfatierungsgrad 0,4–0,9), reicht möglicherweise die negative Ladungsdichte der Monosaccharide nicht, um effizient an Thrombin zu binden (Alban 2008a).

Die »wahre« aIIa-Aktivität von Danaparoid ist allerdings höher, da Heparansulfat und insbesondere die Dermatansulfatfraktion in der Lage sind, die Hemmung von Thrombin durch Heparin-Kofaktor II zu beschleunigen. Dieser Effekt wird allerdings mit dem Arzneibuchtest nicht erfasst (Alban u. Scriba 2007).

Trotz seiner geringen AT-vermittelten aXa- und aIIa-Aktivität und seiner nur schwachen antikaogulatorischen Wirkung erwies sich Danaparoid in verschiedenen Tiermodellen als ebenso antithrombotisch wirksam wie Heparin (Meuleman 1992). Die aXa-Aktivität ist sicherlich an der Wirksamkeit beteiligt, die entscheidende Rolle spielen allerdings andere Fraktionen der komplexen GAG-Mischung. Dass Danaparoid anhand seiner aXa-Aktivität standardisiert, dosiert und im Labor gemessen wird, hat pragmatische Gründe, denn dies war seinerzeit der einzige geeignete Parameter.

**Cave**

Für den Fall schwerer Blutungen durch Danaparoid steht kein Antidot zur Verfügung.

Zum einen lässt sich seine aXa-Aktivität aufgrund seiner geringeren Ladungsdichte noch schlechter mit Protamin neutralisieren als die der NMH, zum anderen ist fraglich, ob die Neutralisierung der aXa-Aktvität überhaupt einen Einfluss auf die Blutung hat.

#### Pharmakokinetik

Die Kenntnisse zur Pharmakokinetik von Danaparoid beschränken sich auf Effektkinetiken, die 4% (aXa-Aktivität) bzw. <0,2% (aIIa-Aktivität) des applizierten Arzneistoffes erfassen. Auch hinsichtlich seiner aXa-Kinetik unterscheidet sich Danaparoid deutlich von den NMH. Die Halbwertszeit ist mit etwa 25 h mehr als 5-mal länger als die der NMH; Steady-State-Plasmaspiegel werden daher erst nach 4–5 Tagen erreicht. Untersuchungen mit synthetischen sulfatierten Oligosacchariden lassen den Schluss zu, dass der niedrige Sulfatierungsgrad für die langsame Elimination verantwortlich ist (Alban 2008a). Da der aXa-aktive Anteil von Danaparoid vorwiegend in aktiver Form über die Nieren ausgeschieden wird, führt eine eingeschränkte Nierenfunktion zu noch längeren Halbwertszeit und zur Akkumulation.

#### Rationale der Anwendung bei HIT Typ II

Die geringe Affinität von Danaparoid zu Plasmaproteinen ist die Grundlage für die Anwendung zur Antikoagulation von HIT-Typ-II-Patienten (▶ Kap. 31.1.3). Die niedrigsulfatierten GAG-Moleküle bilden keine antigenen multimolekularen Komplexe mit PF4. Entsprechend ist bislang kein Fall einer durch Danaparoid ausgelösten HIT Typ II bekannt. Mit HIT-Antikörpern zeigt Danaparoid allerdings in vitro eine Kreuzreaktivität von etwa 7%, klinisch manifeste Kreuzreaktionen wurden in 3,2% der Fälle festgestellt.

### Fondaparinux-Natrium

#### Pharmakodynamik

Fondaparinux, das synthetisch hergestellte Analogon der »AT-binding site«, wirkt als selektiver FXa-Inhibitor (Abb. 51.4). Es bindet spezifisch mit hoher Affinität ($K_D$ 36 nmol/l) an AT und führt durch die Induktion einer Konformationsänderung zu einer etwa 300-fach beschleunigten Inaktivierung von FXa durch AT. Sobald FXa kovalent gebunden ist, löst sich Fondaparinux aus der Bindung an AT und kann erneut an ein AT-Molekül binden.

Durch die Inhibierung von FXa unterbricht Fondaparinux die Gerinnungskaskade und verhindert die Thrombinbildung. Obwohl Thrombin selbst nicht gehemmt wird, wird auf diese Weise die Entstehung bzw. die Vergrößerung eines Thrombus effizient unterbunden.

Im Plasma ist Fondaparinux konzentrationsabhängig (0,5–2,0 µg/ml) zu 98,6–97,0% an AT gebunden. Die Bindung erfolgt nach dem »Schlüssel-Schloss-Prinzip« und beruht auf mehreren definierten Interaktionen mit AT. Deshalb wird Fondaparinux aus der Bindung zu AT weder durch positiv geladene Strukturen (einschließlich Protamin) verdrängt noch interagiert es unter physiologischen Bedingungen mit anderen Proteinen oder Zellen. Es beeinflusst beispielsweise weder die Plättchenfunktion und -aggregation noch bindet es an PF4. Folglich ist das kurzkettige Oligosaccharid im Plasma, d. h. in Gegenwart von AT, nicht

in der Lage, das Neoepitop mit PF4 zu bilden und so eine HIT Typ II zu induzieren. Analog beobachtet man auch in vitro keinerlei Kreuzreaktivität mit HIT-Antikörpern.

### Pharmakokinetik

Im Gegensatz zu den natürlichen GA kennt man bei Fondaparinux nicht nur eine partielle Effektkinetik, sondern die Kinetik des gesamten applizierten Arzneistoffes.

Fondaparinux wird s.c. verabreicht, wobei es vollständig, dosisunabängig und etwa doppelt so schnell wie die NMH resorbiert wird. Nach einmaliger s.c.-Gabe von 2,5 mg wird bei jungen, gesunden Probanden bereits nach 25 min die halbmaximale Plasmakonzentration und nach 2 h eine mittlere $c_{max}$ von 0,34 µg/ml erreicht. Die maximalen Steady-State-Plasmaspiegel nach etwa 3–4 Tagen betragen je nach Alter der Patienten 0,39–0,50 µg/ml. Das Verteilungsvolumen von Fondaparinux (7–11 l) liegt im Bereich des Blutvolumens. Dem schnellen Anfluten folgt eine langsame Elimination; die Halbwertszeit ist mit 17–21 h etwa 4- bis 5-mal länger als die der NMH. Fondaparinux wird unverändert über die Nieren ausgeschieden.

**! Da Fondaparinux nicht an andere Plasmaproteine als AT bindet und – soweit bekannt – nicht metabolisiert wird, gibt es keine Wechselwirkungen mit anderen Arzneistoffen durch Verdrängung aus der Eiweißbindung oder durch eine gemeinsame Metabolisierung über das CYP450-Enzymsystem.**

Insgesamt zeigt Fondaparinux ein lineares pharmakokinetisches Profil mit geringen interindividuellen Schwankungen. Die leichte Erhöhung der Plasma-Clearance mit dem Körpergewicht (9% Steigerung pro 10 kg) ist in der Prophylaxe bedeutungslos, wird aber in der Therapie bei der Dosierung berücksichtigt (▶ Kap. 51.1.4).

Infolge der renalen Elimination neigt Fondaparinux allerdings bei älteren Patienten und Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion zur Akkumulation. Im Vergleich zu Patienten mit normaler Nierenfunktion (Kreatinin-Clearance (KrCl) >80 ml/min) ist die Plasma-Clearance (PlCl) je nach Ausmaß der Nierenfunktionsstörung verringert und die Halbwertszeit entsprechend verlängert:

- KrCl 50–80 ml/min, PlCl Faktor 1,2–1,4 ↓, Halbwertszeit 21 h
- KrCl 30–50 ml/, PlCl Faktor 2,0 ↓, Halbwertszeit 29 h
- KrCl <30 ml/min, PlCl Faktor 5,0 ↓, Halbwertszeit 72 h

### Unterschiede zwischen Fondaparinux und den Heparinen

Während die Heparine aus komplexen, polydispersen GAG-Mischungen bestehen, ist Fondaparinux ein chemisch definiertes Oligosaccharid. Als Produkte tierischen Ursprungs unterliegen die Heparine Chargenvariabilitäten und müssen daher in pharmakologischen Einheiten appliziert werden, wobei sich durch die Vielfalt der Heparine insgesamt komplexe Dosierungsregimes ergeben. Demgegenüber hat das synthetisch hergestellte Fondaparinux stets die gleiche Struktur und damit Wirkung und kann daher in Milligramm quantifiziert werden.

Auch wenn sowohl Heparine als auch Fondaparinux AT-vermittelt FXa hemmen, unterscheiden sie sich in ihren pharmakologischen Eigenschaften. Ausschlaggebend ist das jeweilige Bindungsverhalten der Polyanionen: Fondaparinux besteht nur aus einer Pentasaccharidseqeunz, die mit hoher Affinität spezifisch an AT bindet. Demgegenüber bindet zum einen nur ein Teil der Heparinmoleküle, das HAM, überhaupt an AT, zum anderen besitzen auch diese Moleküle außerhalb ihrer »AT-binding site« je nach Kettenlänge zahlreiche negativ geladene »Andockstellen« für andere Bindungspartner.

**! Infolgedessen hemmt Fondaparinux selektiv FXa, während der Wirkmechanismus der Heparine sehr komplex ist und sie als »multivalente Biomodulatoren« vielfältige zusätzliche Aktivitäten entfalten.**

Obwohl Fondaparinux ausschließlich via AT wirkt, ist es weniger empfindlich gegenüber der AT-Plasmakonzentration als die Heparine und erwies sich in üblicher Dosierung auch bei Patienten mit einem heterozygoten AT-Mangel als wirksam (Bauersachs u. Alban 2007). Zum einen entfallen konkurrierende Bindungen, zum anderen ist die physiologische Plasmakonzentration von AT (~2,4 µmol/l) vielfach höher als die von Fondaparinux, v. a. aber ist sie 17-mal höher als die von Faktor X (~0,14 µmol/l; vgl. Prothombinplasmakonzentration 1,45 µmol/l; Alban 2008a).

Die Tendenz der Heparine zu Interaktionen mit anderen Strukturen ist jedoch nicht nur für therapeutisch nützliche, sondern auch für unerwünschte Effekte wie die Bildung des HIT-Typ-II-Antigens (▶ Kap. 51.1.5) oder weniger gut vorhersagbare Plasmaspiegel verantwortlich (◘ Tab. 51.1). Andererseits lassen sich die Heparine mit Protamin antagonisieren, während Fondaparinux resistent ist.

Schließlich erklärt das Bindungsverhalten die pharmakokinetischen Unterschiede (s.c.-Bioverfügbarkeit, Invasionsgeschwindigkeit, Halbwertszeit, Metabolisierungsrate, Akkumulationsneigung; ◘ Tab. 51.1, ◘ Abb. 51.9), wobei die Effektkinetiken der Heparine allerdings nur einen begrenzten Teil des Arzneistoffes reflektieren.

### Idraparinux-Natrium

### Pharmakodynamik

Idraparinux wirkt wie Fondaparinux AT-vermittelt als selektiver FXa-Inhibitor. Die strukturellen Modifikationen bewirken jedoch, dass es eine etwa 100-mal höhere Affinität zu AT ($K_D$ 0,4 nM; Hjelm et al. 2007) und eine etwa 70% höhere aXa-Aktivität (Herbert et al. 1998) besitzt.

Die Komplexbildung zwischen AT und Pentasacchariden erfolgt in 2 Schritten. Während die initiale ionische Bindung von Idraparinux etwa 4-mal schwächer ist als die von Fondaparinux, ist die nachfolgende Interaktion mit dem in seiner Konformation geänderten AT etwa 400-mal stärker. Verantwortlich für diese starke Bindung sind v.a. die zusätzlichen nicht ionischen Interaktionen, die durch die Methoxygruppen vermittelt werden und etwa 70% der Bindungsenergie zwischen AT und Idraparinux ausmachen (Hjelm et al. 2007).

#### Pharmakokinetik

Pharmakokinetischen Studien zufolge besitzt Idraparinux eine Halbwertszeit von etwa 4 Tagen. Da dies ungefähr der physiologischen Halbwertszeit von AT entspricht, wird Idraparinux aufgrund seiner starken Bindung an AT vermutlich erst im Rahmen des Abbaus von AT freigesetzt und ausgeschieden.

Die Van-Gogh-Extended-Studie zeigte jedoch, dass die antithrombotische Wirksamkeit bzw. Blutungsgefahr auch nach Absetzen von Idraparinux noch Wochen bis Monate lang andauert (Van Gogh Investigators 2007b); im Plasma der Patienten wurde entsprechend lange auch aXa-Aktivität nachgewiesen (Harenberg et al. 2008). Dies wirft die Frage auf, ob möglicherweise der physiologische Abbau von AT behindert wird, wenn es durch die Bindung an Idraparinux in seiner Konformation verändert ist.

#### Heparinmimetikum SR123781A

#### Pharmakodynamik

Das sulfatierte Hexadecasaccharid SR123781A wird als Heparinmimetikum bezeichnet, da es AT-vermittelt sowohl FXa als auch Thrombin hemmt.

> **! SR123781A ist einen selektiver dualer Inhibitor, der ausschließlich an AT und Thrombin bindet und nicht mit anderen Plasmaproteinen interagiert (Herbert et al. 2001).**

Seine Bindung an AT erfolgt über eine spezifische Pentasaccharidsequenz, die an Thrombin über eine hochsulfatierte Tetrasaccharidsequenz im erforderlichen Abstand (▶ Kap. 51.1.2). Das aus 7 Monosacchariden bestehende Verbindungsstück ist jedoch unsulfatiert und vollständig methyliert (Petitou et al. 1999a; ◘ Abb. 51.5.). Dies und die Tatsache, dass die thrombinbindende Domäne auf nur 4 geladenen Monosacchariden besteht, gewährleistet, dass das Molekül nicht an andere Proteine bindet.

Rationale dieser Entwicklung war es, durch die duale Hemmung der beiden zentralen Gerinnungsfaktoren möglicherweise eine stärkere antithrombotische Wirkung zu erzielen, jedoch gleichzeitig die Vorteile von Fondaparinux zu nutzen, nämlich definierte pharmakodynamische und -kinetische Eigenschaften, und ein Antikoagulans ohne HIT-Typ-II-Risiko zu kreieren. Zumindest in vitro bindet SR123781A weder an PF4 noch zeigt es eine Kreuzreaktivität mit HIT-Typ-II-Antikörpern (Herbert et al. 2001).

#### Pharmakokinetik

Die pharmakokinetischen Eigenschaften von SR123781A ähneln denen von Fondaparinux. Die Halbwertszeit ist also trotz einer Kettenlänge, die typisch für NMH ist, vielfach länger als die der NMH. Untersuchungen mit weiteren synthetischen sulfatierten Oligosacchariden haben gezeigt, dass Sulfatgruppen außerhalb der »AT-binding site« keinen Einfluss auf die Affinität zu AT haben, jedoch sukzessive die Halbwertszeit verkürzen (Hérault et al. 2002). Wie bei den Heparinen erlauben diese zusätzlichen Ladungen unspezifische Bindungen an Plasmaproteine und Zellen und führen so – wahrscheinlich durch die Aufnahme in Makrophagen – zu einer schnelleren Elimination.

### 51.1.3 Indikationen

#### Unfraktioniertes Heparin

Die Angaben zum Anwendungsgebiet von UFH sind relativ unspezifisch. Alle UFH-Präparate können universell eingesetzt werden:

- zur Prophylaxe von thromboembolischen Erkrankungen (TE)
- im Rahmen der Therapie von venösen und arteriellen TE (einschließlich der Frühbehandlung des Herzinfarkts sowie der instabilen Angina pectoris)
- zur Antikoagulation bei Behandlung oder Operation mit extrakorporalem Kreislauf (z. B. Herz-Lungen-Maschine, Hämodialyse).

UFH wurde bereits lange angewendet, bevor die Zulassungspflicht für Arzneimittel 1978 mit dem »Gesetz zur Neuordnung des Arzneimittelrechts« (2. AMG) in Deutschland eingeführt wurde. Wie üblich für Arzneimittel, die sich damals im Verkehr befanden, wurde es zunächst als Altarzneimittel »fiktiv zugelassen« und dann nach Überprüfung »nachzugelassen«. Da UFH und die Vitamin-K-Antagonisten (VKA) die einzigen zu dieser Zeit verfügbaren Antikoagulanzien waren, wurden sie eingesetzt, wann immer eine Antikoagulation erforderlich war, und entsprechend zur globalen Thromboseprophylaxe und Therapie nachzugelassen.

Im Gegensatz zu allen nach 1978 zugelassenen Arzneimitteln gibt es für UFH somit keine Zulassungsstudien nach strengen Kriterien zum Nachweis der Wirksamkeit und Unbedenklichkeit bei einer bestimmten Indikation. Praktische Relevanz erlangt diese Sachlage beispielsweise bei der überbrückenden Antikoagulation von Patienten, die dauerhaft mit VKA behandelt werden, wenn sie sich

interventionellen Eingriffen unterziehen müssen (Bauersachs et al. 2007).

**! Durch sein globales Anwendungsgebiet ist die Verwendung von UFH zum »bridging« formal abgedeckt, während hingegen die NMH nicht für diese Indikation zugelassen sind. Im Vergleich zu UFH ist die Datenlage zum »bridging« mit NMH jedoch wesentlich besser, sodass aus medizinischer Sicht der »off-label use« von NMH vorzuziehen ist.**

Die Vorteile der NMH haben dazu geführt, dass der Anteil von UFH inzwischen auf ca. 20% der in Deutschland applizierten Heparindosen gesunken ist, in der ambulanten Anwendung sogar auf 5%. Während UFH in der Therapie sowie der peri- und postoperativen Prophylaxe von VTE nur noch eine marginale Rolle spielt, ist es bei Indikationen, für die die NMH keine Zulassung haben, noch immer das am häufigsten angewendete Antikoagulans.

Die größte Bedeutung hat UFH nach wie vor als Antikoagulans in der Kardiologie, Kardiochirurgie und Intensivmedizin. Es wird routinemäßig neben Plättchenaggregationshemmern in der frühen, nichtinvasiven Behandlung des akuten Koronarsyndroms (ACS) eingesetzt, ferner bei perkutanen koronaren Interventionen (PCI), im Rahmen von Bypassoperation und der Lysetherapie des akuten ST-Hebungs-Infarkts (STEMI).

Während in der Hämo- und Peritonealdialyse mittlerweile auch NMH angewendet werden, ist UFH ferner immer noch das Antikoagulans der Wahl beim Einsatz der Herz-Lungen-Maschine. Auch in der Intensivmedizin dominiert bei Weitem die Thromboseprophylaxe mit UFH, wobei hier die kurze Halbwertszeit und die ggf. gute Antagonisierbarkeit als entscheidende Vorteile gesehen werden. So ist es bei der disseminierten intravsalen Gerinnung (DIC) indiziert und wird auch häufig bei Sepsispatienten eingesetzt, um der Entwicklung einer DIC vorzubeugen.

### Niedermolekulare Heparine

Aktuellen Leitlinien zufolge gelten NMH neben Fondaparinux heute als Mittel der Wahl zur Therapie sowie zur peri- und postoperativen Prophylaxe von VTE. Ein relativ junges Einsatzgebiet für Antikoagulanzien ist die Prophylaxe in der Inneren Medizin bei mittlerem bis hohem VTE-Risiko. Hierzu zählen beispielsweise Patienten, die akut unter Herzinsuffizienz (NYHA III–IV), schweren Infektionen oder respiratorischen Erkrankungen leiden, und auch bettlägerige Patienten mit einem oder mehreren zusätzlichen Risikofaktoren, wie z. B. Tumorerkrankungen, VTE in der Anamnese, Sepsis, akute neurologische Erkrankungen oder inflammatorische Darmerkrankungen. Für diese Indikation sind in Deutschland neben Fondaparinux Enoxaparin und Dalteparin zugelassen sowie Certoparin bei Patienten mit akutem ischämischem Schlaganfall (■ Tab. 51.2).

**! Die verschiedenen NMH unterscheiden sich in ihrem Spektrum an zugelassenen Indikationen. Aus haftungsrechtlicher Sicht sollten sie zulassungskonform angewendet werden. Gibt es bei einer Indikation keine zugelassene Alternative, empfiehlt es sich, ein NMH zu wählen, zu dem entsprechende klinische Daten vorliegen.**

Alle NMH wurden zunächst für die peri- und postoperative Prophylaxe zugelassen. Lediglich Tinzaparin darf in Deutschland bis heute nicht bei hohem VTE-Risiko (z. B. othopädische Chirurgie) eingesetzt werden, obwohl es in anderen EU-Ländern, USA und Kanada seit Jahren auch im Hochrisikobereich angewandt wird. Die prolongierte Prophylaxe nach Hüftfraktur und Hüftgelenkersatz hat mittlerweile in allen Leitlinien den höchsten Grad der Empfehlung, explizit erwähnt ist eine Prophylaxe für die Dauer von bis zu 35 Tagen bei Patienten nach Hüftgelenkersatz jedoch nur bei den Indikationen von Dalteparin.

Für die TVT-Therapie stehen in Deutschland aktuell 4 NMH zur Verfügung: Nadroparin, Enoxaparin, Tinzaparin und Certoparin (Reviparin nicht auf dem Markt). Analog zu Tinzaparin in der Prophylaxe ist Dalteparin in der Therapie national nicht zugelassen, obwohl es in den USA sogar zur Langzeitsekundärprophylaxe bei Tumorpatienten eingesetzt wird. Enoxaparin besitzt seit 2005 die Indikationserweiterung »Therapie tiefer Venenthrombosen mit und ohne Lungenembolie«, für die Therapie der isolierten, leichten bis mittelschweren Lungenembolie ist jedoch nach wie vor einzig Tinzaparin zugelassen.

Neben diesen Hauptanwendungsgebieten dienen Dalteparin, Enoxaparin, Nadroparin und Tinzaparin zur Antikoagulation im Rahmen der Hämodialyse. Über das breiteste Spektrum an Indikationen verfügt Enoxaparin unter den NMH. Es ist derzeit in Deutschland auch das einzige NMH, das zur Therapie aller Formen des ACS (instabile Angina pectoris, NSTEMI und – seit September 2007 – STEMI bei (zunächst) konservativ behandelten Patienten) zugelassen ist (▶ Kap. 32.3).

Eine gewisse Sonderstellung besitzt Reviparin mit der Indikation für die VTE-Prophylaxe bei immobilisierten Traumapatienten mit mittlerem Risiko, wie z. B. Patienten mit einer Unterschenkelfraktur. Für die wichtigere Anwendung bei (Poly-) Traumapatienten mit hohem Risiko ist jedoch keines der NMH zugelassen. Bei solchen Patienten werden die NMH »off-label«, aber leitlininienkonform eingesetzt.

In ähnlicher Weise kommen die NMH bei etlichen weiteren Indikationen mangels Alternative zum Einsatz. Beispiele sind die VTE-Prophylaxe in der Schwangerschaft, bei Patienten mit Rückenmarkverletzungen oder Verbrennungen, bei hospitalisierten Tumorpatienten sowie in der Neuro-, Wirbelsäulen- und Gefäßchirurgie. Häufig exis-

**Tab. 51.2.** In Deutschland zugelassene Indikationen der niedermolekularen Heparine (laut Fachinformationen, Stand April 2009)

| | Certoparin (Mono-Embolex®) | Dalteparin (Fragmin®) | Enoxaparin (Clexane®) | Nadroparin (Fraxiparin®, Fraxodi®) | Reviparin (Clivarin®) | Tinzaparin (Innohep®) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **VTE-Prophylaxe** | | | | | | |
| Peri- und postoperativ: niedriges bis mittleres Risiko | × | × | × | × | × | × |
| Peri- und postoperativ: hohes Risiko | × | ×[b] | × | × | ×[d] | |
| Immobilisierte Traumapatienten: mittleres Risiko | | | | | × | |
| Internistische Patienten: mittleres bis hohes Risiko | | × | × | | | |
| Internistische Patienten: ischämischer Schlaganfall | × | | | | | |
| Hämodialyse, -filtration[a] | | × | × | × | | × |
| **Therapie** | | | | | | |
| TVT-Therapie | × | | × | × | ×[d] | × |
| LE-Therapie | | | ×[c] | | | × |
| IA, NSTEMI | | | × | | | |
| STEMI | | | × | | | |

[a] Hämofiltration nur bei Dalteparin und Nadroparin; [b] einschließlich der prolongierten Gabe über 35 Tage bei Patienten nach Hüftgelenkersatzoperation; [c] Enoxaparin: Therapie tiefer Venenthrombosen mit und ohne Lungenembolie; [d] Reviparin aktuell für diese Indikationen nicht auf dem Markt
*TVT* tiefe Venenthrombose; *LE* Lungenembolie; *IA* instabile Angina pectoris; *NSTEMI* Nicht-ST-Hebungs-Myokardinfarkt; *STEMI* akuter ST-Hebungs-Myokardinfarkt



tiert eine Grad-1A-Empfehlung zur Anwendung der NMH in nationalen oder internationalen Leitlinien. In vielen Fällen ist die Studienlage zu NMH besser als die zu UFH, wobei die Evidenz für die einzelnen Präparate allerdings sehr unterschiedlich sein kann.

Die zahlreichen in den letzten Jahren erteilten Indikationserweiterungen für diverse NMH und laufende Studien zu weiteren Anwendungsgebieten (z. B. Überlebenszeitverlängerung von Tumorpatienten, Schlaganfallprophylaxe bei Vorhofflimmern) zeigen, dass die Entwicklung der NMH noch nicht als abgeschlossen anzusehen ist.

## Danaparoid-Natrium

Danaparoid ist in Deutschland für folgende Indikationen zugelassen:

- VTE-Prophylaxe in Situationen, in denen Heparin nicht angewendet werden soll, einschließlich bei Patienten mit HIT Typ II;
- Therapie von TE bei Patienten mit akuter HIT Typ II oder HIT Typ II in der Anamnese.

Von den 3 in Deutschland bei akuter HIT Typ II verfügbaren Antikoagulanzien wird Danaparoid bislang noch am häufigsten eingesetzt. Im Gegensatz zu Danaparoid und Argatroban ist Lepirudin nur zur TE-Therapie bei HIT Typ II zugelassen.

## Fondaparinux-Natrium

Wie Enoxaparin ist auch Fondaparinux für ein breites Spektrum an Indikationen einschließlich der Behandlung des ACS (▶ Kap. 32.3) zugelassen (siehe Übersicht).

Entsprechend der heutigen Zulassungspraxis orientieren sich die Formulierungen zu den Anwendungsgebieten von Fondaparinux streng an den jeweils durchgeführten klinischen Phase-III-Studien. Während die NMH laut Fachinformation allgemein »zur peri- und postoperativen Primärprophylaxe von TVT bei Patienten mit hohem thromboembolischen Risiko (z. B. orthopädische Chirurgie)« eingesetzt werden können, heißt es bei Fondaparinux: »Zur Prophylaxe von VTE bei Patienten, die sich größeren orthopädischen Eingriffen an den unteren Extremitäten unterziehen müssen, wie beispielsweise Hüftfrakturen,

> **In der Europäische Union zugelassene Indikationen von Fondaparinux**
> - VTE-Prophylaxe in der orthopädischen Chirurgie
> - prolongierte VTE-Prophylaxe (5 Wochen) nach Hüftfrakturoperationen
> - VTE-Prophylaxe in der Abdominalchirurgie bei Patienten mit hohem TE-Risiko (z. B Tumoroperation)
> - VTE-Prophylaxe bei internistischen Patienten mit erhöhtem VTE-Risiko und bei Immobilisation wegen einer akuten Erkrankung, wie z. B. Herzinsuffizienz, akuter Atemwegserkrankung, infektiöser oder entzündlicher Erkrankung
> - Therapie der instabilen Angina pectoris oder des NSTEMI bei Patienten, bei denen keine dringende PCI (<120 min) angezeigt ist
> - Therapie des STEMI bei Patienten, die mit Thrombolytika oder initial konservativ behandelt werden
> - Therapie tiefer Venenthrombosen (TVT)
> - Lungenembolietherapie (außer bei hämodynamisch instabilen Patienten oder Patienten, die einer Thrombolyse oder einer pulmonalen Embolektomie bedürfen)

größere Knie- oder Hüftersatzoperationen.« De facto wurden aber auch die verschiedenen NMH vor 15–20 Jahren allein auf der Basis von Studien in der orthopädischen Chirurgie zugelassen.

Aus dieser modernen Zulassungspraxis erklärt sich auch, dass unter den Anwendungsgebieten die postoperative VTE-Prophylaxe bei niedrigem bis mittlerem Risiko nicht aufgeführt ist. Denn in dieser Indikation wurde Fondaparinux nicht klinisch geprüft. Einen »off-label-use« oder gar eine Kontraindikation hieraus abzuleiten, widerspräche angesichts der Erfahrungen mit den NMH dem medizinischen Sachverstand. Dies wird in der neuen Interdisziplinären S3-Leitlinie zur VTE-Prophylaxe addressiert, laut der Antikoagulanzien, die ihre Wirksamkeit und Verträglichkeit im Hochrisikobereich gezeigt haben, auch bei mittlerem Risiko eingesetzt werden können. (AWMF: Prophylaxe der venösen Thromboembolie (VTE). AWMF-Leitlinien-Register Nr. 003/001 Entwicklungsstufe: 3 + IDA. Finale Version vom 18.03.2009. http://www.awmf-leitlinien.de/).

## 51.1.4 Dosierung und Applikation

### Unfraktioniertes Heparin

UFH muss individuell dosiert werden! Die Dosierung ist abhängig von den Gerinnungswerten, von Art und Verlauf der Erkrankung, Ansprechen des Patienten, Nebenwirkungen, Gewicht und Alter der Patienten. Zu berücksichtigen ist die unterschiedliche Heparinempfindlichkeit und eine mögliche Änderung der Heparintoleranz im Therapieverlauf.

Wegen seiner geringen Bioverfügbarkeit nach s.c.-Injektion wird UFH in der Therapie arterieller und venöser TE prinzipiell als i.v.-Infusion verabreicht. Lediglich in der VTE-Prophylaxe wird es s.c. appliziert. Mit der 2- bis 3-mal täglichen Gabe von 5.000–7.500 IE lassen sich effiziente, aber oft in der APTT nicht messbare Plasmaspiegel erreichen. Der Name »low-dose«-Prophylaxe ist historisch begründet und bezieht sich auf die ursprünglich auch in der Prophylaxe übliche Gabe therapeutischer Dosen.

Die Dosierungsangaben in ◘ Tab. 51.3 sind lediglich als Richtgrößen zu sehen; maßgebend für die individuelle Dosierung sind die Laborkontrollen, d. h. die Verlängerung der APTT.

### Niedermolekulare Heparine

Die NMH werden sowohl in der Prophylaxe als auch der Therapie ausschließlich s.c. injiziert. Die i.v.-Gabe eines NMH wäre sicherlich gegenüber der von UFH von Vorteil, ist aber nicht ausreichend untersucht. Jedes NMH wird individuell dosiert (► Kap. 51.1.2).

#### VTE-Prophylaxe

In der peri- und postoperativen Prophylaxe bei niedrigem bis mittlerem VTE-Risiko (◘ Tab. 51.4) erfolgt die Anwendung aller NMH abgesehen von der jeweiligen Dosis nach dem gleichen Schema. Mit der einmal täglichen s.c.-Injektion einer Fixdosis ohne Routinemonitoring ist die Anwendung von NMH sehr viel einfacher und bequemer als die von UFH.

In der peri- und postoperativen Hochrisikoprophylaxe hingegen gibt es Unterschiede zwischen den Dosierungsregimes (◘ Tab. 51.4). Während Nadroparin (außer bei orthopädischen Patienten) und Certoparin wie bei niedrigem bis mittlerem Risiko angewendet werden, wird die Dosis von Dalteparin und Enoxaparin verdoppelt und bereits am Abend vor der Operation injiziert. Dalteparin bietet demgegenüber eine gewisse Flexibilität, denn die erste Injektion kann alternativ auch ca. 2 h vor oder aber – wie in USA und Kanada generell üblich – erst nach der Operation erfolgen. Der postoperative Beginn eignet sich besonders für Patienten mit einem hohen Blutungsrisiko (z. B. Polytraumapatienten). Komplex ist das Dosierungsregime von Nadroparin bei Patienten, die sich größeren orthopädischen Operationen unterziehen. Es wird nicht nur zwischen 3 Körpergewichtsklassen differenziert, sondern die Dosis wird am vierten postoperativen Tag um 33% bzw. 50% erhöht.

Die Behandlung mit NMH soll im Allgemeinen so lange fortgeführt werden, wie ein erhöhtes TE-Risiko besteht

**Tab. 51.3.** Dosierung und Applikation von UFH

| Indikation | Applikation | Initiale Dosis | Dosierung | Dauer | Monitoring[a] |
|---|---|---|---|---|---|
| **VTE-Prophylaxe** | | | | | |
| Prä- und postoperativ | Alle 8–12 h s.c. | 5.000–7.500 IE 2 h prä-OP | 5.000–7.500 IE | Bis zur Mobilisierung bzw. Ziel-INR | APTT, vereinzelt erforderlich |
| | Alle 12 h s.c. | | 7.500 IE | | |
| Innere Medizin | Alle 8–12 h s.c. | | 5.000–7.500 IE | Individuell | APTT, erforderlich |
| | Alle 12 h s.c. | | 7.500 IE | | |
| **VTE-Therapie** | | | | | |
| Erwachsene | i.v.-Infusion | 5.000 IE | 1.000 IE/h | Mind. 4 Tage | APTT-Ratio: 1,5–2,5 |
| Kinder | i.v.-Infusion | 50 IE/kgKG | 20 IE/kgKG/h | Mind. 4 Tage | APTT-Ratio: 1,5–2,5 |
| **Akutes Koronarsyndrom** | | | | | |
| IA, NSTEMI | i.v.-Infusion | 5.000 IE | 1.000 IE/h | Mind. 48 h | APTT-Ratio: 1,5–2,0 |
| Lyse A[b,c] bei STEMI | i.v.-Infusion | 5.000 IE | 1.000 IE/h | 48 h | APTT-Ratio: 1,5–2,5! |
| Lyse B[b,d] bei STEMI | Alle 12 h s.c. | 12.500 IE 4 h nach Lyse | 12.500 IE | 48 h | APTT-Ratio: 1,5–2,5! |
| **Extrakorporale Zirkulation** | | | | | |
| Herz-Lungen-Maschine | Individuelle Dosierung u. a. abhängig vom Maschinentyp und der Dauer der Operation | | | | ACT |
| Hämodialyse[e] | Individuelle Dosierung u. a. abhängig vom Maschinentyp[c] | | | | APTT |

[a] Laborkontrolle zur individuellen Dosisanpassung; [b] die genaue Dosierung ist entsprechend den Angaben des Thrombolytikums vorzunehmen, auf eine genaue Kontrolle des Gerinnungsstatus ist zu achten; [c] Begleittherapie bei Thrombolyse mit fibrinspezifischen Thrombolytika (z. B. rt-PA); [d] alternativ möglich bei Thrombolyse mit nicht fibrinspezifischen Thrombolytika (z. B. Streptokinase); [e] Beispiel für Patienten mit niedrigem Blutungsrisiko: Injektion eines Bolus von 85 IE/kgKG direkt in den arteriellen Schenkel des Dialysesystems oder eines Bolus von 35 IE/kgKG und anschließend während der Dialyse eine Infusion von 10–15 IE/kgKG/h; *ACT* aktivierte Gerinnungszeit; *APTT* aktivierte partielle Thromboplastinzeit; *IA* instabile Angina pectoris; *STEMI* ST-Hebungs-Infarkt; *VTE* venöse Thromboembolie

(im Mittel 7–10 Tage). Bei Patienten nach Hüftgelenkersatz- und Hüftfrakturoperationen heißt das 28–35 Tage, nach Kniegelenkersatzoperationen 11–14 Tage (Interdisziplinäre S3-Leitlinie »Prophylaxe der venösen Thromboembolie (VTE)«, Stand März 2009). Nachdem der Nutzen in einer Metaanalyse von 3 klinischen Studien gezeigt worden ist, sollen auch Patienten mit onkologischen Eingriffen im Bauch- und Beckenraum eine verlängerte Prophylaxe für 4–5 Wochen erhalten. Darüber hinaus ist die Entscheidung für eine prolongierte, auch ambulant durchführbare Prophylaxe anhand des individuellen Risikos zu fällen.

Die Prophylaxe bei internistischen Patienten wird mit der Hochrisikodosis von Enoxaparin (1-mal täglich 40 mg) oder Dalteparin (1-mal täglich 5.000 aXa-IE) durchgeführt. Die Dauer der Behandlung orientiert sich auch hier am TE-Risiko, beträgt jedoch maximal 14 Tage. Bei Patienten mit Schlaganfall wird Certoparin (1-mal täglich 3.000 aXa-IE) für 12–16 Tage lang angewendet.

### Rückenmarknahe Regionalanästhesie (Gogarten et al. 2007)

Um Hämatome mit schwerwiegenden Folgen zu vermeiden, ist bei der Anwendung von Heparinen und Fondaparinux und gleichzeitiger rückenmarknaher Regionalanästhesie bzw. Lumbalpunktion ein injektionsfreies Zeitintervall vor und nach Punktion bzw. Katheterentfernung einzuhalten.

- UFH (Prophylaxe): vorher 4 h, nachher 1 h
- UFH (Therapie): vorher 4–6 h, nachher 1 h (keine intravenöse Bolusgabe)
- NMH (Prophylaxe): vorher 12 h, nachher 2–4 h
- NMH (Therapie): vorher 24 h/ nachher 2–4 h
- Fondaparinux (≤2,5 mg/Tag): vorher 36–42 h, d. h. Auslassen einer Injektion (Singelyn et al. 2007), nachher 6–12 h

**Tab. 51.4.** Dosierung der NMH zur peri- und postoperativen VTE-Prophylaxe

| NMH | Prä-OP-Dosierung | Dosierung OP-Tag | Post-OP-Dosierung | Dauer |
|---|---|---|---|---|
| **Niedriges bis mittleres VTE-Risiko** | | | | |
| Certoparin (Mono-Embolex®) | 1–2 h prä-OP: 3.000 aXa-IE | | 1-mal täglich (alle 24 h) 3.000 aXa-IE | 7–10 Tage |
| Dalteparin (Fragmin®) | ~2 h prä-OP: 2.500 aXa-IE | | 1-mal täglich morgens 2.500 aXa-IE | Ca. 7–10 Tage |
| Enoxaparin (Clexane®) | ~2 h prä-OP: 20 mg[a] | | 1-mal täglich 20 mg[a] | Ca. 7–10 Tage |
| Nadroparin (Fraxiparin®) | ~2 h prä-OP: 2.850 aXa-IE[b] | | 1-mal täglich morgens 2.850 aXa-IE[b] | Mind. 7 Tage |
| Reviparin (Clivarin®) | ~2 h prä-OP: 1.750 aXa-IE | | 1-mal täglich (alle 24 h) 1.750 aXa-IE[a] | Ca. 7–10 Tage |
| Tinzaparin (Innohep®) | ~2 h prä-OP: 3.500 aXa-IE | | 1-mal täglich morgens 3.500 aXa-IE | Ca. 7–10 Tage |
| **Hohes VTE-Risiko** | | | | |
| Certoparin (Mono-Embolex®) | Wie bei niedrigem bis mittlerem VTE-Risiko | | | |
| Dalteparin (Fragmin®)[c] | 10–14 h prä-OP 5.000 aXa-IE | Abends (~24 h nach 1. Injektion) 5.000 aXa-IE | 1-mal täglich abends 5.000 aXa-IE | Ca. 7–10 Tage, Hüft-TEP: bis 5 Wochen[e] |
| | ~2 h prä-OP 2.500 aXa-IE | Ca. 8–12 h (>4 h) nach 1. Injektion 2.500 aXa-IE | 1-mal täglich morgens 5.000 aXa-IE[d] | |
| | Entfällt | 4–8 h post-OP 2.500 aXa-IE | 1-mal täglich (alle 24 h) 5.000 aXa-IE[d] | |
| Enoxaparin (Clexane®) | ~12 h prä-OP 40 mg[a] | Wie post-OP | 1-mal täglich 40 mg | Ca. 7–10 Tage |
| Nadroparin (Fraxiparin®) | Wie bei niedrigem bis mittlerem VTE-Risiko, jedoch bei größer orthopädischen OP: | | | |
| | ~12 h prä-OP:<br>– <50 kgKG: 0,2 ml[f]<br>– 50–69 kgKG: 0,3 ml[f]<br>– ≥70 kgKG: 0,4 ml[f] | ~12 h post-OP sowie 1-mal täglich am 1.–3. Tag post-OP:<br>– <50 kgKG: 0,2 ml[f]<br>– 50–69 kgKG: 0,3 ml[f]<br>– ≥70 kgKG: 0,4 ml[f] | Ab 4. Tag post-OP:<br>– <50 kgKG: 0,3 ml[f]<br>– 50–69 kgKG: 0,4 ml[f]<br>– ≥70 kgKG: 0,6 ml[f] | Mind. 10 Tage |

[a] 20 mg = 2.000 aXa-IE, 40 mg = 4.000 aXa-IE; [b] 0,3 ml = 2.850 aXa-IE (nach PhEur-Standard) = 3.075 aXa-IE (nach WHO-Standard); [c] 3 Optionen für den Therapiebeginn, wobei sich Option 3 insbesondere bei erhöhter Blutungsgefahr, z. B. Polytrauma, eignet; [d] Gabe mindestens 6 h nach der ersten postoperativen Dosis; [e] bei Patienten mit Hüftgelenkersatzoperationen Dauer bis zu 5 Wochen laut einer Studie sinnvoll, laut Leitlinien jedoch für alle NMH und auch bei Hüftfrakturoperationen empfohlen; [f] 0,2 ml = 1.900 aXa-IE, 0,3 ml = 2.850 aXa-IE, 0,4 ml = 3.800 aXa-IE, 0,6 ml = 5.700 aXa-IE

## VTE-Therapie

Auch bei der therapeutischen Anwendung gibt es einige auffällige Unterschiede zwischen den einzelnen NMH (Tab. 51.5). Im Gegensatz zur einmal täglichen Gabe einer Fixdosis in der Prophylaxe, erfolgt sie überwiegend in Form einer 2-mal täglichen Injektion einer körpergewichtsadapatierten Dosis. Das einzige NMH, das 2-mal täglich in einer fixen Dosierung (8.000 aXa-IE) appliziert wird, ist Certoparin. Nur 1-mal statt 2-mal täglich wird Tinzaparin injiziert. Nadroparin wird für beide Regimes angeboten; Fraxiparin® wird 2-mal täglich, Fraxodi® 1-mal täglich angewendet. Ein weiterer Unterschied betrifft das »dose capping«: Während die Dosis von Enoxaparin und Nadroparin ab einem bestimmten Körpergewicht nicht weiter erhöht wird, konnte für Tinzaparin nachgewiesen werden, dass auch bei Patienten mit extrem hohem Körpergewicht eine körpergewichtsadapatierte Dosierung nicht zu erhöhten Plasmaspiegeln führt. Hingegen empfehlen Experten bei adipösen Patienten generell eine körpergewichtsadapatierte Dosierung der NMH ohne obere Grenze (Hirsh et al. 2008).

Die Dauer der Behandlung mit NMH soll mindestens 5–6 Tage betragen, wobei die überlappende orale Gabe von

**Tab. 51.5.** Dosierung der NMH zur VTE-Therapie

| NMH | Applikation | Einzeldosis | Dose-Capping | Dauer und Beginn VKA | Fertigspritzen, Multidose-Injektionslösung |
|---|---|---|---|---|---|
| Certoparin (Mono-Embolex®) | 2-mal täglich s.c. | 8.000 aXa-IE (<60 kgKG Cave!) | Entfällt | Ca. 10–14 Tage ab 7.–10. Tag | – FS: 8.000 IE<br>– kein MD |
| Enoxaparin (Clexane®) | 2-mal täglich s.c. | 1 (0,94–1,09) mg/kgKG[a] | >104 kgKG | ≥5 Tage ab 2.–3. Tag | – FS: 60/80/100 mg<br>– MD: 100 mg/ml |
| Nadroparin (Fraxiparin®) | 2-mal täglich s.c. | 95 (80–95) aXa-IE/kgKG[b] | >90 kgKG | ≥5 Tage, i.d.R. 10 Tage ab 1. Tag | – FS: 0,4/0,6/0,8/1,0 ml<br>– MD: 9.500 IE/ml |
| Nadroparin (Fraxodi®) | 1-mal täglich s.c. | 190 (160–190) aXa-IE/kgKG[b] | >90 kgKG | ≥5 Tage, i.d.R. 10 Tage ab 1. Tag | – FS: 0,4/0,6/0,8/1,0 ml<br>– kein MD |
| Tinzaparin (Innohep®) | 1-mal täglich s.c. | 175 aXa-IE/kgKG | Kein Dose-Capping | ≥6 Tage ab 2. Tag | – FS: 0,5/0,7/0,9 ml<br>– MD: 20.000 i.E./ml |

[a] 1 mg = 1.000 aXa-IE; *FS* Fertigspritze; *MD* Multidose; *VKA* Vitamin-K-Antagonisten; [b] die körpergewichtsadaptierte Dosierung erfolgt jeweils in Stufen von 10 kgKG, z. B. Clexane® 80 mg bei 75–84 kgKG, Fraxiaparin® 0,7 ml bei 70–79 kgKG

Vitamin-K-Antagonisten in der Regel bereits am ersten oder zweiten Tag beginnt. Nicht sachgerecht erscheint die Fachinformation zu Certoparin, das demzufolge explizit 10–14 Tage anzuwenden ist und bei dem die orale Antikoagulation erst am siebten bis zehnten Tag begonnen werden soll. Die parenterale Antikoagulation wird beendet, wenn eine stabile INR von 2–3 erreicht ist. In Ausnahmefällen ist es gerechtfertig, Patienten längerfristig mit NMH anstelle von Vitamin-K-Antagonisten zu behandeln; die Blutungsgefahren sind dabei geringer, die Frage der optimalen Dosis ist noch ungeklärt (Interdisziplinäre S2-Leitlinie »Diagnostik und Therapie der tiefen Bein- und Beckenvenenthrombose«, Stand Januar 2005; van der Heijden 2002). Bei Tumorpatienten hat sich eine mehrmonatige Therapie mit Dalteparin und Tinzaparin statt Vitamin-K-Antagonisten bei vergleichbarem Blutungsrisiko als signifikant wirksamer erwiesen (Lee et al. 2003; Hull et al. 2006), sodass bei solchen Patienten eine 3- bis 6-monatige Behandlung mit NMH empfohlen wird (Kearon et al. 2008).

## Enoxaparin beim akuten Koronarsyndrom

Der Einsatz von Enoxaparin beim ACS erfolgt in Kombination mit 100–325 mg Acetylsalicylsäure (weitere Details ► Kap. 32.3). Die zugelassene Dosierung beträgt wie in der VTE-Therapie 1 mg/kgKG s.c. alle 12 h; wobei die Behandlung des STEMI mit einem i.v.-Bolus von 30 mg unmittelbar vor der ersten Injektion eingeleitet wird und die beiden ersten Injektionen maximal je 100 mg betragen dürfen. Bei instabiler Angina pectoris und NSTEMI wird Enoxaparin 2–5 Tage, beim STEMI bis zur Entlassung aus dem Krankenhaus bzw. maximal 8 Tagen angewandt.

Wegen des erhöhten Blutungsrisikos kommen bei älteren STEMI-Patienten (≥75 Jahre) und bei Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion reduzierte Dosierungen zum Einsatz. Erstere erhalten keinen Bolus und eine reduzierte Dosis von 0,75 mg/kgKG alle 12 h. Bei Patienten mit einer KrCl <30 ml/min wird die Dosis von 1 mg/kgKG nur einmal täglich gegeben. Patienten mit einer leichten bis mittleren Einschränkung der Nierenfunktion sind mit Vorsicht zu behandeln, ggf. ist auch hier die Dosis zu reduzieren.

## Hämodialyse

Die Dosierung zur Antikoagulation während der Hämodialyse ist sowohl vom verwendeten Dialysesystem als auch vom Blutungsrisiko des Patienten abhängig. Sie ist im Rahmen der ersten Dialysesitzungen individuell anzupassen. Bei Patienten ohne hohes Blutungsrisiko genügt für eine Dialysedauer von etwa 4 h eine initiale Bolusinjektion in den arteriellen Schenkel des Dialysegeräts. Die jeweils empfohlenen Dosierungen sind daher nur als Richtwerte zu betrachten (siehe Übersicht).

### Empfohlene Dosierungen für die Bolusinjektion von NMH vor der Dialyse

- Dalteparin: 85 aXa-IE/kgKG
- Enoxaparin: 0,01 ml/kgKG (100 aXa-IE/kgKG)
- Nadroparin:
  - <50 kgKG: 0,3 ml (2.850 aXa-IE)
  - 50–69 kgKG: 0,4 ml (3.800 aXa-IE)
  - >50 kgKG: 0,6 ml (5.700 aXa-IE)
- Tinzaparin: 4.500 aXa-IE

Dalteparin kann alternativ auch nach Bolusinjektion einer geringeren Dosis kontinuierlich infundiert werden, was aufgrund der resultierenden geringeren maximalen aXa-Plasmaspiegel besonders bei Patienten mit hohem Blutungsrisiko sinnvoll ist.

## Dosierung bei Nierenfunktionsstörungen

Die NMH besitzen eine unterschiedlich stark ausgeprägte Neigung zur Akkumulation bei Patienten mit Nierenfunktionsstörungen (▶ Kap. 51.1.2). Hieraus ergeben sich distinkte Empfehlungen für die Anwendung bei solchen Patienten (siehe Übersicht). Bei stark eingeschränkter Nierenfunktion (KrCl <30ml/min) können entweder die beiden nicht signifikant akkumulierenden NMH Dalteparin und Tinzaparin oder Enoxaparin angewendet werden, wobei bei Enoxaparin die Vorgaben zur Dosisreduktion zu beachten sind und ein aXa-Monitoring durchzuführen ist.

**Einsatz der NMH bei Patienten mit Nierenfunktionsstörungen (laut Fachinformationen, Stand 03.2008)**

- Enoxaparin
  - KrCl <30 ml/min: Dosisreduktion (unterschiedlich je nach Indikation und Risiko, siehe Fachinformation) und aXa-Monitoring
  - KrCl <80 ml/min: sorgfältige Überwachung (aXa-Monitoring)
- Nadroparin
  - KrCl <30 ml/min: Kontraindikation
  - KrCl 30–60 ml/min: in der Therapie aXa-Monitoring (Ziel: 0,5–1,0 aXa-IE/ml), ggf. Dosisreduktion
- Reviparin
  - KrCl <30 ml/min: Kontraindikation
  - KrCl 30–50 ml/min: in der Therapie aXa-Monitoring (Ziel: 0,5–1,2 aXa-IE/ml), ggf. Dosisreduktion
- Certoparin
  - KrCl <30ml/min: Kontraindikation
  - KrCl 30–80ml/min: in der Therapie »Anwendung unter erhöhter Vorsicht«
- Dalteparin
  - »Anwendung unter erhöhter Vorsicht«, aXa-Monitoring empfohlen
- Tinzaparin
  - »Anwendung mit Vorsicht«, d. h. ggf. aXa-Monitoring
  - kontraindiziert bei Patienten mit Niereninsuffizienz, die 90 Jahre und älter sind

### Danaparoid-Natrium

Die Dosierung und Anwendung von Danaparoid richtet sich nach der Indikation und erfolgt bei Patienten mit HIT Typ II je nach Situation nach komplexen, teilweise gestuften Schemata, die an anderer Stelle beschrieben sind (▶ Kap. 31.1.3).

Wird Danaparoid zur VTE-Prophylaxe in Situationen angewendet, in denen Heparin kontraindiziert ist, beträgt die Dosierung 750 aXa-E 2-mal täglich s.c. (~110 mg pro Tag) und die Behandlung im Normalfall maximal 14 Tage. Bei chirurgischen Patienten wird die Behandlung 1–4 h präoperativ begonnen. In der Regel ist kein aXa-Monitoring erforderlich (Ausnahme z. B. Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion). Wird die Antikoagulation mit VKA fortgesetzt, sollte mit der oralen Antikoagulation 2–3 Tage vor dem Absetzen begonnen werden, um eine therapeutische INR zu erreichen.

**Cave**

Eine Dosierung von 750 aXa-E 2-mal täglich s.c. ist zwar adäquat für die VTE-Prophylaxe von HIT-Typ II-Patienten, wenn die HIT Typ II vor >3 Monaten aufgetreten ist. Für die TE-Prophylaxe bei Patienten mit einer akuten HIT Typ II bzw. einer HIT Typ II, die ≤3 Monate zurückliegt, ist sie jedoch nicht ausreichend (▶ Kap. 31.1.3).

### Fondaparinux-Natrium

Im Vergleich zu den Heparinen ist die Anwendung von Fondaparinux mit der einmal täglichen s.c.-Injektion einer prophylaktischen oder therapeutischen Fixdosis bei allen Indikationen relativ einfach (◘ Tab. 51.6). Die prophylaktische Dosis von 2,5 mg wird sowohl bei chirurgischen und internistischen Patienten als auch bei Patienten mit einem ACS eingesetzt. In der Therapie der TVT und LE beträgt die Dosis üblicherweise 7,5 mg; bei Patienten mit einem Körpergewicht <50 kg bzw. >100 kg werden jedoch 5 mg bzw. 10 mg verabreicht.

## VTE-Prophylaxe in der Chirurgie

Die Prophylaxe mit Fondaparinux wird wie bei den neuen direkten Thrombin- und FXa-Inhibitoren (▶ Kap. 51.2) postoperativ begonnen. Die erste Injektion erfolgt 6 h nach Beendigung der Operation, wenn die Hämostase eingesetzt hat. Bei Patienten ≥75 Jahre und/oder mit einem Körpergewicht <50 kg und/oder mit einer Nierenfunktionsstörung (KrCl 20–50 ml/min) darf dieser Abstand nicht unterschritten werden, da eine Verkürzung des Zeitfensters bei diesen Patienten mit einem erhöhten Blutungsrisiko verbunden ist.

Andererseits kann das Zeitfenster nach einer Hüft- oder Kniegelenkersatzoperation, falls medizinisch oder organisatorisch erforderlich, ohne Reduktion der Wirksamkeit verlängert und die erste Dosis erst am Morgen nach dem Operationstag injiziert werden (Colwell et al. 2005).

**Tab. 51.6.** Dosierung von Fondaparinux

| Indikation | Tagesdosis | Dauer [Tage] | Nierenfunktionsstörung |
|---|---|---|---|
| **VTE-Prophylaxe** | | | |
| Orthopädische Chirurgie | 1-mal täglich 2,5 mg s.c, 1. Dosis ≥6 h post-OP | mind. 5–9, Hüftfraktur-OP: 29–33 | – KrCl <20 ml/min: kontraindiziert<br>– KrCl 20–50 ml/min: 1-mal täglich 1,5 mg<br>– KrCl >50 ml/min: keine Dosisreduktion |
| Abdominalchirurgie | 1-mal täglich 2,5 mg s.c | mind. 5–9 | |
| Internistische Patienten | 1-mal täglich 2,5 mg s.c | 6–14 | |
| **Akutes Koronarsyndrom** | | | |
| IA, NSTEMI[a] | 1-mal täglich 2,5 mg s.c | Bis zur Entlassung, max. 8 | – KrCl <20 ml/min: kontraindiziert<br>– KrCl >20 ml/min: keine Dosisreduktion |
| STEMI[a] | 1-mal täglich 2,5 mg s.c, 1. Dosis 2,5 mg i.v. | Bis zur Entlassung, max. 8 | |
| **VTE-Therapie** | | | |
| <50 kgKG | 1-mal täglich 5 mg s.c. | mind. 5, i.d.R. 7 (bis INR 2–3); Beginn VKA innerhalb 72 h | – KrCl <30 ml/min: kontraindiziert<br>– KrCl 30–50 ml/min: Vorsicht, max. 7 Tage |
| 50–100 kgKG | 1-mal täglich 7,5 mg s.c. | | |
| >50 kgKG | 1-mal täglich 10 mg s.c. | | |

[a] Im Fall einer nicht primären perkutanen koronaren Intervention (PCI) soll während der PCI zusätzlich UFH gegeben werden (letzte Fondparinux-Injektion ca. 6–24 h vor UFH, erste Injektion nach PCI mind. 2 bzw. 3 h nach Ziehen der Schleuse). IA instabile Angina pectoris; NSTEMI Nicht-ST-Hebungs-Infarkt; STEMI ST-Hebungs-Infarkt



### Dosierung bei Nierenfunktionsstörungen

Bei Patienten mit Nierenfunktionsstörungen kommt es zur Akkumulation von Fondaparinux (▶ Kap. 51.1.2). Daher ist seine Anwendung in therapeutischer Dosierung bei schwerer (KrCl <30 ml/min) und in prophylaktischer Dosierung bei schwerster Nierenfunktionsstörungen (KrCl <20ml/min) kontraindiziert (Tab. 51.6). In der VTE-Prophylaxe wird bei Patienten mit einer KrCl 20–50 ml/min die Dosis auf einmal täglich 1,5 mg s.c. reduziert. In der VTE-Therapie und bei der Behandlung des ACS soll keine Dosisreduktion erfolgen. Während bei der Dosisreduktion von Enoxaparin und ggf. anderer NMH die aXa-Plasmaspiegel zu kontrollieren sind, ist bei Fondaparinux kein aXa-Monitoring erforderlich.

**Unterschiedliche Technik der s.c.-Injektion von Heparinen und Fondparinux**

Bei der s.c.-Injektion von UFH und NMH ist es Usus, die Luftblase aus der Spritze zu drücken. Infolgedessen haftet oft ein Tropfen an der Injektionsnadel. Er ist vor der Injektion zu entfernen, da ein Einbringen von Heparin in den Stichkanal zu einem oberflächlichen Bluterguss bzw. in seltenen Fällen zu einer lokalen allergischen Reizung führen kann.

▼

Demgegenüber soll bei der s.c.-Injekton von Fondaparinux, um eine vollständige Entnahme des Arzneimittels aus der Spritze zu gewährleisten, die Luftblase in der Spritze vor der Injektion nicht entfernt werden. Daher tritt hier das Problem der anhaftenden Tropfen nicht auf.

## 51.1.5 Nebenwirkungen

### Blutungen

Pharmakologisch bedingt sind Blutungen die häufigste Nebenwirkung aller Antikoagulanzien. Sie reichen von Hämatomen an der Injektionsstelle über Blutungen im Bereich von Haut, Schleimhaut, Wunden, Gastrointestinal- oder Urogenitaltrakt bis hin zu schweren retroperitonealen oder intrakraniellen, spinalen oder perikardialen Blutungen. Die Häufigkeit größerer Blutungen liegt im Bereich von 0,2–5%, tödliche Blutungen treten selten auf (<1:1.000). Zu beachten ist das allgemein erhöhte Blutungsrisiko, wenn Antikoagulanzien in Verbindung mit einer rückenmarksnahen Regionalanästhesie oder Lumbalpunktion eingesetzt werden. Um das Risiko schwerwiegender neurologischer Komplikationen infolge spinaler und epiduraler Hämatome zu minimieren, sollten die Plas-

maspiegel beim Legen bzw. Entfernen des Katheters möglichst niedrig sein (▶ Kap. 51.1.4).

Die Blutungsgefahr ist zwar abhängig von der Dosis, wird aber entscheidend von anderen Faktoren (z. B. Operationstechnik) und dem individuellen Risiko des Patienten beeinflusst (Levine et al. 2004). Ein erhöhtes Risiko haben ältere Patienten, Frauen und Tumorpatienten. Auch die gleichzeitige Behandlung mit Arzneimitteln, die die Hämostase beeinflussen (Plättchenaggregationshemmer, nichtsteroidale Antirheumatika, Fibrinolytika, Dextran, Zytostatika), führt vermehrt zu Blutungen.

Abgesehen von Einzelergebnissen (z. B. Simonneau et al. 2006; Van Gogh Investigators 2007b; Yusuf et al. 2006) scheint es insgesamt keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Blutungsrisikos zwischen den verschiedenen Glykoantikoagulanzien zu geben. Entgegen der ursprünglichen Erwartungen gilt dies auch für die NMH im Vergleich zu UFH in der peri- und postoperativen Prophylaxe (Koch et al. 1997). Ihr tendenziell geringeres Blutungsrisiko in der VTE-Therapie (Dolovich et al. 2000; Büller et al. 2004) beruht wahrscheinlich in erster Linie auf ihren pharmakokinetischen Eigenschaften, die besser vorhersagbare Wirkspiegel bedingen.

Zu beachten ist, dass einige NMH, wie Enoxaparin und Nadroparin, sowie Danaparoid und Fondaparinux bei Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion akkumulieren und so das Blutungsrisiko erhöhen (Gouin-Thibault 2005). Für Enoxaparin in der normalen therapeutischen Dosierung wurde bei diesen Patienten eine deutlich höhere Inzidenz schwerer Blutungen im Vergleich zu Nierengesunden nachgewiesen (Odd-Ratio=3,88; Lim et al. 2006).

Post-hoc-Analysen und neuere Studien haben gezeigt, dass Fondaparinux nicht mit einem höheren Blutungsrisiko als die NMH verbunden ist; in einer großen Phase-III-Studie zum Einsatz bei IA- und NSTEMI-Patienten war die Zahl größerer Blutungen unter Fondaparinux sogar ca. 50% niedriger als unter NMH (2,1 versus 4,1%; Yusuf et al. 2006). Im Rahmen der postoperativen Prophylaxe ist entscheidend, dass die erste Fondaparinux-Injektion nicht früher als 6 h postoperativ erfolgt.

### Heparininduzierte Thrombozytopenie

#### Unfraktioniertes Heparin und niedermolekulare Heparine

Zu Beginn einer Behandlung mit UFH kann es zu einem vorübergehenden Abfall der Thrombozytenzahl auf Werte zwischen 100.000 und 150.000/µl kommen. Diese heparininduzierte Thrombozytopenie Typ I (HIT Typ I) beruht auf einer Plättchenaktivierung durch UFH, verläuft aber in der Regel komplikationslos und erfordert kein Absetzen von UFH. Trotz ihrer in vitro reduzierten bzw. fehlenden Tendenz, mit Plättchen zu interagieren, treten transiente Thrombozytopenien gelegentlich auch unter den NMH, Danaparoid und Fondaparinux auf.

Streng abzugrenzen von dieser klinisch nicht relevanten Thrombozytopenie ist die antikörpervermittelte HIT Typ II, die schwerwiegendste Nebenwirkung der Heparine (▶ Kap. 31.1.3). Je nach Patientenkollektiv und Indikation tritt HIT Typ II unter UFH-Therapie mit einer Häufigkeit von bis zu 5% auf, unter NMH-Gabe ist die Inzidenz etwa 10-mal niedriger (Lee u. Warkentin 2007).

Bei nicht Sensibilisierten beginnt der schnellen Abfall in der Regel 5–14 Tage nach Behandlungsbeginn, bei Sensibilisierten (innerhalb der letzten 3 Monate) jedoch unter Umständen bereits innerhalb weniger Stunden. Durch die Bildung multimerer PF4-Heparin-Komplexe ensteht ein Neoantigen, das zusammen mit induzierten Antikörpern große Immunkomplexe bildet, die u. a. Thrombozyten aktivieren und so schließlich den charakteristischen Thrombozytenabfall auf Werte <100.000/µl oder auf <50% des Ausgangswerts verursachen.

Trotz der Thrombozytopenie werden Blutungskomplikationen nicht beobachtet. Aufgrund der starken Gerinnungsaktivierung kommt es hingegen bei etwa 50% der Patienten zu schwerwiegenden venösen und arteriellen thromboembolischen Komplikationen, häufig mit letalem Ausgang. Die Diagnose HIT Typ II erfordert das sofortige Absetzen des Heparins und eine alternative Antikoagulation.

#### Danaparoid und Fondaparinux

Während alle Heparine eine starke Kreuzreaktivität mit HIT-Typ-II-assoziierten Antikörpern aufweisen (UFH 100%, NMH ~70%), beträgt sie bei Danaparoid <10% und Fondaparinux, das unter physiologischen Bedingungen nicht an PF4 bindet, zeigt keinerlei Kreuzreaktion. Danaparoid ist eines der für den Einsatz bei HIT Typ II zugelassenen Antikoagulanzien. Es ist jedoch zu kontrollieren, dass keine Kreuzreaktivität vorliegt oder sich während der Therapie entwickelt (Inzidenz ~1%).

Der Einsatz von Fondaparinux ist bislang nicht systematisch untersucht worden. Deshalb ist es für die Behandlung einer akuten HIT Typ II nicht zugelassen. Zahlreichen Fallberichten zufolge wurde es aber erfolgreich sowohl bei HIT Typ II in der Anamnese als auch bei aktuer HIT Typ II eingesetzt. Einzelfallberichte über eine HIT Typ II unter Fondaparinux sind kein Beleg für einen kausalen Zusammenhang (Warkentin et al. 2007; Bradner u. Eikelboom 2007), denn eine HIT Typ II kann auch spontan ohne jeglichen Heparinkontakt auftreten, das Syndrom wird aktuell auch als Autoimmunreaktion diskutiert (Cines et al. 2007).

### Allergische Reaktionen

Allergische sowie anaphylaktische bzw. anaphylaktoide Reaktionen gegenüber den Glykoantikoagulanzien sind prinzipiell möglich, kommen aber selten (<1:1.000) vor. Die

Wahrscheinlichkeit ist bei UFH am höchsten; auch Verunreinigungen in UFH sind als Auslöser nicht auszuschließen (Heparinskandal 2008). Außerdem können allergische Reaktionen auch durch das in Multidose-Darreichungsformen enthaltene Konservierungsmittel oder Natriumsulfit (in Orgaran®) bzw. Natriummetabisulfit (in Innohep® 20.000 anti-Xa IE/ml) hervorgerufen werden.

Häufiger als diese Typ-I-Reaktionen werden kutane Reaktionen im Bereich der Injektionsstelle beobachtet. Es handelt sich um T-Zell-vermittelte Typ-IV-Reaktionen, die Tage bis Wochen nach Beginn der Therapie und bei Reexposition innerhalb von 1–3 Tagen auftreten. In der Inzidenz und Kreuzreaktivität zeigt sich auch hier eine Abhängigkeit von der Molekülmasse (UFH > NMH > Danaparoid >> Fondaparinux; Ludwig et al. 2005), sodass im Fall einer Sensibilisierung ein Wechsel auf Fondaparinux oder ein anderes entsprechend zugelassenes Antikoagulans am sinnvollsten ist.



### Weitere Nebenwirkungen

Häufig (1–10%) ist unter der Behandlung mit UFH, NMH und Danaparoid ein Anstieg der Serumtransaminasen (Alanin- und Aspartataminotransferase) zu beobachten, der aber zumeist reversibel und klinisch nicht bedeutsam ist. Auch unter Fondaparinux ist diese Erhöhung der Leberenzymwerte gelegentlich festzustellen (0,1–1%).

Weitere Nebenwirkungen sind typisch für UFH und resultieren aus der ausgeprägten Tendenz der hochmolekularen Anteile zu unspezifischen Bindungen (► Kap. 51.1.2). Von Bedeutung ist die Osteoporose, die sich nach längerer Anwendung höherer Dosierungen entwickeln kann. Sie beruht auf der Bindung der Polyanionen an Membranproteine der Osteoblasten, die daraufhin osteoklastenaktivierende Faktoren freisetzen (Irie et al. 2007). In seltenen Fällen kann auch vorübergehend Alopezie auftreten; nach Absetzen von UFH tritt aber meist der Haarwuchs wieder ein.

### Literatur


Abildgaard U (1993) Heparin / low molecular weight heparin and tissue factor pathway inhibitor. Haemostasis 23 (Suppl 1):103–106

Alban S (2008a) Natürliche und synthetische Glycosaminoglycane: Molekulare Charakteristika als Grundlage unterschiedlicher Arzneistoffprofile. Hämostaseologie 28: 51–61

Alban S (2008b) Pharmacological strategies for inhibition of thrombin activity. Curr Pharm Des 14: 1152–75

Alban S (2007) Kohlenhydrate III: Aminoglykane und Glykosaminoglykane. In: Hänsel R, Sticher O (Hrsg) Pharmakognosie – Phytopharmazie. Heidelberg: Springer, S 655–704

Alban S, Scriba GKE (2007) Kommentar zur Monographie »Danaparoid sodium« PhEur 6.0, 2090. In: Arzneibuch-Kommentar, Bd 5, Monographien D bis H. Stuttgart, Eschborn: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Govi-Verlag, 26. Lieferung (PhEur 6.0)

Alban S (2005a) The 'precautionary principle' as a guide for future drug development. Eur J Clin Invest 35 (Suppl I): 33–44

Alban S (2005b) From heparins to factor Xa inhibitors and beyond. Eur J Clin Invest 35 (Suppl I): 12–20

Alban S (2004) Paradigm change in anticoagulation. Natural substances that are selective factor Xa inhibitors. Pharm Unserer Zeit 33: 190–194

Alban S, Gastpar R (2001) Plasma levels of total and free tissue factor pathway inhibitor (TFPI) as individual pharmacological parameters of various heparins. Thromb Haemost 85: 824–829

Alban S (1997) Carbohydrates with anticoagulant and antithrombotic properties. In: Witczak ZJ, Nieforth KA (eds) Carbohydrates in Drug Design. New York: Marcel Dekker, p 209–276

Al Dieri R, Alban S, Béguin S, Hemker HC (2006) Fixed dosage of low-molecular-weight heparins causes large individual variation in coagulability, only partly correlated to body weight. J Thromb Haemost 4: 83–88

Al Dieri R, Alban S, Béguin S, Hemker HC (2004) Thrombin generation for the control of heparin treatment, comparison with the activated partial thromboplastin time. J Thromb Haemost 2: 1003–1007

Altieri DC (1995) Inflammatory cell participation in coagulation. Semin Cell Biol 6: 269–274

Andersson LO, Barrowcliffe TW, Holmer E, Johnson EA, Sims GE (1976) Anticoagulant properties of heparin fractionated by affinity chromatography on matrix-bound antithrombin III and by gel filtration. Thromb Res 9: 575–583

Barrowcliffe TW, Merton RE, Havercroft SJ, Thunberg L, Lindahl U, Thomas DP (1984) Low-affinity heparin potentiates the action of high-affinity heparin oligosaccharides. Thromb Res 34: 125–133

Bauersachs R, Alban S (2007) Perioperative bridging with fondaparinux in a woman with antithrombin deficiency. Thromb Haemost 97: 498–499

Bauersachs R, Schellong S, Haas S, Gogarten W, riess H, Omran H (2007) Überbrückung der oralen Antikoagulation bei interventionellen Eingriffen. Dtsch Ärztebl 104: A 1237–1244

Béguin S, Welzel D, Al Dieri R, Hemker HC (1999) Conjectures and refutations on the mode of action of heparins. The limited importance of anti-factor Xa activity as a pharmaceutical mechanism and a yardstick for therapy. Haemostasis 29:170–178

Bendetowicz AV, Kai-H, Knebel-R, Caplain-H, Hemker-HC, Lindhout-T, Béguin-S (1994) The effect of subcutaneous injection of unfractionated and low molecular weight heparin on thrombin generation in platelet rich plasma – a study in human volunteers. Thromb Haemost 72: 705–712

Bianchini P, Liverani L, Spelta F, Mascellani G, Parma B (2007) Variability of heparins and heterogeneity of low molecular weight heparins. Semin Thromb Hemost 33: 496–502

Björk I, Olson ST, Shore JD (1989) Molecular mechanisms of the accelerating effect of heparin on the reactions between antithrombin and clotting proteinases. In: Lane DA, Lindahl U (eds) Heparin, Chemical and Biological Properties, Clinical Applications. Boca Raton, Fl: CRC Press, p 229–256

Bradner JE, Eikelboom JW (2007) Emerging anticoagulants and heparin-induced thrombocytopenia: Indirect and direct factor Xa inhibitors and oral thrombin inhibitors. In: Warkentin T, Greinacher A (eds) Heparin-Induced Thrombocytopenia, 4th ed. New York: Marcel Dekker, p 441–486

Büller HR, van Doormaal FF, van Sluis GL, Kamphuisen PW (2007) Cancer and thrombosis: from molecular mechanisms to clinical presentations. J Thromb Haemost 5 (Suppl 1): 246–254

Büller HR, Agnelli G, Hull RD, Hyers TM, Prins MH, Raskob GE (2004) Antithrombotic therapy for venous thromboembolic disease: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy.Chest 126(3 Suppl): 401S–428S

Cambus JP, Saivin S, Heilmann JJ, Caplain H, Boneu B, Houin G (2002) The pharmacodynamics of tinzaparin in healthy volunteers. Br J Haematol 116: 649–652

Choay J, Petitou M, Lormeau JC, Sinay P, Casu B, Gatti G (1983) Structure-activity relationship in heparin: a synthetic pentasaccharide with high affinity for antithrombin III and eliciting high anti-factor Xa activity. Biochem Biophys Res Commun 116: 492–499

Choay J, Lormeau JC, Petitou M, Sinay P, Fareed J (1981) Structural studies on a biologically active hexasaccharide obtained from heparin. Ann NY Acad Sci 370: 644–649

Cines DB, Rauova L, Arepally G, Reilly MP, McKenzie SE, Sachais BS, Poncz M (2007) Heparin-induced thrombocytopenia: an autoimmune disorder regulated through dynamic autoantigen assembly/disassembly. J Clin Apheresis 22: 31–36

Collignon F, Frydman A, Caplain H, Ozoux ML, Le Roux Y, Bouthier J, Thebault JJ (1995) Comparison of the pharmacokinetic profiles of three low molecular mass heparins – dalteparin, enoxaparin and nadroparin – administered subcutaneously in healthy volunteers (doses for prevention of thromboembolism). Thromb Haemost 73: 630–640

Colwell CW, Kwong L, Turpie AGG, Davidson BL (2005) Flexibility in administration of fondparinux for the prevention of symptomatic venous thromboembolism in orthopaedic surgery. J Arthroplasty 21: 36–45

Depasse F, Gonzalez de Suso MJ, Lagoutte I, Fontcuberta J, Borrell M, Samama MM (2003) Comparative study of the pharmacokinetic profiles of two LMWHs – bemiparin (3500 IU, anti-Xa) and tinzaparin (4500 IU, anti-Xa) – administered subcutaneously to healthy male volunteers. Thromb Res 109: 109–117

Dolovich LR, Ginsberg JS, Douketis JD, Holbrook AM, Cheah G (2000) A meta-analysis comparing low-molecular weight heparins with unfractionated heparin in the treatment of venous vhromboembolism. Arch Intern Med 160: 181–188

Eriksson BI, Soderberg K, Widlund L, Wandeli B, Tengborn L, Risberg B (1995) A comparative study of three low-molecular weight heparins (LMWH) and unfractionated heparin (UH) in healthy volunteers. Thromb Haemost 73: 398–401

Forsberg E, Pejler G, Ringvall M et al. (1999) Abnormal mast cells in mice deficient in a heparin-synthesizing enzyme. Nature 400: 773–776

Frydman A (1996) Low-molecular-weight heparins: an overview of their pharmacodynamics, pharmacokinetics and metabolism in humans. Haemostasis 26 (Suppl 2): 24–38

Gogarten W, Van Aken H, Büttner J, Riess H, Wulf H, Bürkle H (2007) Rückenmarksnahe Regionalanästhesie und Thromboembolieprophylaxe / antithrombotische Medikation, 2. überarbeitete Empfehlung der deutschen Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin. Anästh Intensivmed 48: S109–S124

Gouin-Thibault I, Pautas E, Siguret V (2005) Safety profile of different low-molecular weight heparins used at therapeutic dose. Drug Saf 28: 333–349

Gray E, Cesmeli S, Lormeau JC, Davies AB, Lane DA (1994) Low affinity heparin is an antithrombotic agent. Thromb Haemost 71: 203–207

Green D (2006) Coagulation cascade. Hemodial Int 10 (Suppl 2): S2–4

Greinacher A, Alban S, Dummel V, Franz G, Mueller-Eckhardt C (1995) Characterization of the structural requirements for a carbohydrate based anticoagulant with a reduced risk of inducing the immunological type of heparin-associated thrombocytopenia. Thromb Haemost 74: 886–892

Hamano S, Nishiyama M, Kikuchi S, Komatsu H, Miyata H, Ikeda S, Sakuragawa N (1992) Study of low molecular weight heparin effect on the relation between anticoagulant activity and antithrombin III affinity. Thromb Res 66: 299–307

Harenberg J, Jörg I, Vukojevic Y, Mikus G, Weiss C (2007) Anticoagulant effects of idraparinux after termination of therapy for prevention of recurrent venous thromboembolism: observations from the can Gogh trials. Eur J Clin Pharmacol 64: 555–563

Hérault JP, Bernat A, Roye F, Michaux C, Schaeffer P, Bono F, Petitou M, Herbert JM (2002) Pharmacokinetics of new synthetic heparin mimetics. Thromb Haemost 87: 985–989

Herbert JM, Hérault JP, Bernat A, Savi P, Schaeffer P, Driguez PA, Duchaussoy P, Petitou M (2001) SR123781A, a synthetic heparin mimetic. Thromb Haemost 85: 852–860

Herbert JM, Herault JP, Bernat A, van Amsterdam RG, Lormeau JC, Petitou M et al. (1998) Biochemical and pharmacological properties of SANORG 34006, a potent and long-acting synthetic pentasaccharide. Blood 91: 4197–4205

Herbert JM, Petitou M, Lormeau JC et al. (1997) SR 90107A/Org 31450, a novel anti-factor Xa antithrombotic agent. Cardiovascular Drug Reviews 15: 1–26

Hirsh J, Bauer KA, Donati MB, Gould M, Samama MM, Weitz JI; American College of Chest Physicians (2008) Parenteral anticoagulants: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). Chest 133 (6 Suppl): 141S–159S

Hirsh J, Raschke R (2004) Heparin and low moleuclar weight heparin: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. Chest 126 (3 Suppl): 188S–203S

Hjelm R, Schedin-Weiss S (2007) High affinity interaction between a synthetic, highly negatively charged pentasaccharide and alpha- or beta-antithrombin is predominantly due to nonionic interactions. Biochemistry 46: 3378–84

Hull RD, Pineo GF, Brant RF et al.; LITE Trial Investigators (2006) Long-term low-molecular-weight heparin versus usual care in proximal-vein thrombosis patients with cancer. Am J Med 11: 1062–1672

Humphries DE, Wong GW, Friend DS, Gurish MF, Qiu WT, Huang C, Sharpe AH, Stevens RL (1999) Heparin is essential for the storage of specific granule proteases in mast cells. Nature 400: 769–772

Irie A, Takami M, Kubo H, Sekino-Suzuki N, Kasahara K, Sanai Y (2007) Heparin enhances osteoclastic bone resorption by inhibiting osteoprotegerin activity. Bone 41: 165–174

Jeske W, Lormeau JC, Callas D, Iqbal O, Hoppensteadt D, Fareed J (1995) Antithrombin III affinity dependence on the anticoagulant, antiprotease, and tissue factor pathway inhibitor actions of heparins. Semin Thromb Hemost 21: 193–200

Kearon C, Kahn SR, Agnelli G, Goldhaber S, Raskob GE, Comerota AJ; American College of Chest Physicians (2008) Antithrombotic therapy for venous thromboembolic disease: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). Chest 133: 454S–545S

Koch A, Buges S, Ziegler S, Dinkel H, Daures JP, Victor N (1997) Low molecular weight heparin and unfractionated heparin in thrombosis prophylaxsis after major surgical intervention: update of previous meta-analysis. Br J Surg 84: 750–759

Lee DH, Warkentin TE (2007) Frequency of heparin-induced thrombocytopenia. In: Warkentin T, Greinacher A (eds) Heparin-Induced Thrombocytopenia, 4th ed. New York: Marcel Dekker, p 67–116

Lee AY, Levine MN, Baker RI, Bowden C, Kakkar AK, Prins M, Rickles FR, Julian JA, Haley S, Kovacs MJ, Gent M (2003) Low-molecular-weight heparin versus a coumarin for the prevention of recurrent venous thromboembolism in patients with cancer. N Engl J Med 349:146–153

Levine MN, Raskob G, Beyth RJ, Kearon C, Schulman S (2004) hemorrhagic complications of anticoagulant treatment. Chest 126: 287S–310S

Lim W, Dentali F, Eikelboom JW, Crowther MA (2006) Meta-Analysis: Low-Molecular-Weight Heparin and Bleeding in Patients with Severe Renal Insufficiency. Ann Intern Med 144: 673–684

Lindahl U, Kusche-Gullberg M, Kjellén L (1998) Regulated diversity of heparan hulfate. J Biol Chem 273: 24979–24982

Lindahl AK, Sandset PM, Abildgaard U (1992) The present status of tissue factor pathway inhibitor. Blood Coagul Fibrinolysis 3: 439–449

Liu J, Pedersen LC (2007) Anticoagulant heparan sulfate: structural specificity and biosynthesis. Appl Microbiol Biotechnol 74: 263–272

Ludwig RJ, Alban S, Boehncke WH (2006) Structural requirements of heparin and related molecules to exert a multitude of anti-inflammatory activities. Mini Rev Med Chem 6: 1009–1023

Ludwig RJ, Schindewolf M, Alban S, Kaufmann R, Lindhoff-Last E, Boehncke WH (2005) Molecular weight determines the frequency of delayed type hypersensitivity reactions to heparin and synthetic oligosaccharides. Thromb Haemost 94: 1265–1269

Macie C, Forbes L, Foster GA, Douketis JD (2004) Dosing practices and risk factors for bleeding in patients receiving enoxaparin for the treatment of an acute coronary syndrome. Chest 125: 1616–1621

Meuleman DG (1992) Orgaran (Org 10172): Its pharmacological profile in experimental models. Haemostasis 22: 58–65

Merton RE, Thomas DP, Havercroft SJ, Barrowcliffe TW, Lindahl U (1984) High and low affinity heparin compared with unfractionated heparin as antithrombotic drugs. Thromb Haemost 51: 254–256

Mulloy B (2005) The specificity of interactions between proteins and sulfated polysaccharides. An Acad Bras Cienc 77: 651–664

Ofosu FA (1989) Antithrombotic mechanisms of heparin and related compounds. In: Lane DA, Lindahl U (eds) Heparin, Chemical and Biological Properties, Clinical Applications. Boca Raton, Fl: CRC Press, p 433–454

Olson ST, Bjork I, Sheffer R, Craig PA, Shore JD, Choay J (1992) Role of the antithrombin-binding pentasaccharide in heparin acceleration of antithrombin-proteinase reactions. Resolution of the antithrombin conformational change contribution to heparin rate enhancement. J Biol Chem 267: 12528–12538

Petitou M, Herault JP, Bernat A, Driguez PA, Duchaussoy P, Lormeau JC, Herbert JM (1999a) Synthesis of thrombin-inhibiting heparin mimetics without side effects. Nature 398: 417–422

Petitou M, Driguez PA, Duchaussoy P, Herault JP, Lormeau JC, Herbert JM (1999b) Synthetic oligosaccharides having various functional domains: potent and potentially safe heparin mimetics. Bioorg Med Chem Lett 9: 1161–1166

Petitou M, Duchaussoy P, Jaurand G, Gourvenec F, Lederman I, Strassel JM et al. (1997) Synthesis and pharmacological properties of a close analogue of an antithrombotic pentasaccharide (SR 90107A/ORG 31540). J Med Chem 40: 1600–7

Poletti L, Lay L (2003) Chemical Contributions to Understanding Heparin Activity: Synthesis of Related Sulfated Oligosaccharides. Eur J Org Chem 16: 2999–3024

Rabenstein DL (2002) Heparin and heparan sulfate: structure and function. Nat Prod Rep 19: 312–333

Rosenberg RD, Bauer KA (1994) The heparin-antithrombin system: a natural anticoagulant mechanism. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ et al. (eds) Hemostasis and thrombosis: Basic principles and clinical practice, 3rd ed. Philadelphia, PA: Lippincott, p 837–8–0

Samama MM, Gerotziafas GT (2000) Comparative pharmacokinetics of LMWHs. Semin Thromb Hemost 26 (Suppl 1): 31–38

Singelyn FJ, Verheyen CCPM, Piovella F, Van Aken HK, Rosencher N (2007) The safety and efficacy of extended thromboprophylaxis with fondaparinux after major orthopaedic surgery of the lower limb with or without a neuraxial or deep peripheral nerve catheter: The EXPERT study. Anesth Analg 105: 1540–1547

Simonneau G, Laporte S, Mismetti P, Derlon A, Samii K, Samama CM, Bergman JF; FX140 Study Investigators (2006) A randomized study comparing the efficacy and safety of nadroparin 2850 IU (0.3 mL) vs. enoxaparin 4000 IU (40 mg) in the prevention of venous thromboembolism after colorectal surgery for cancer. J Thromb Haemost 4:1693–1700

Simonis D, Christ K, Alban S, Bendas G (2007) Affinity and kinetics of different heparins binding to P- and L-selectin. Semin Thromb Hemost 33: 534–539

Smorenburg SM, Van Noorden CJ (2001) The complex effects of heparins on cancer progression and metastasis in experimental studies. Pharmacol Rev 53: 93–105

The Amadeus Investigators (2008) Comparison of idraparinux with vitamin K antagonists for prevention of thromboembolism in patients with atrial fibrillation: a randomised, open-label, non-inferiority trial. Lancet 371: 315–21

Valentin S, Ostergaard P, Kristensen H, Nordfang O (1992) Synergism between full length TFPI and heparin: evidence for TFPI as an important factor for the antithrombotic activity of heparin [letter]. Blood Coagul Fibrinolysis 3: 221–2

van Boeckel CAA, Petitou M (1993) The unique antithrombin binding domain of heparin: a lead to new synthetic antithrombotics. Angew Chem Int Ed Engl 3: 1671–1690

van der Heijden JF, Hutten BA, Buller HR, Prins MH (2002) Vitamin K antagonists or low-molecular-weight heparin for the long term treatment of symptomatic venous thromboembolism. Cochrane Database Syst Rev 1: CD002001

Van Gogh Investigators, Buller HR, Cohen AT, Davidson B et al. (2007a) Idraparinux versus standard therapy for venous thromboembolic disease. N Engl J Med 357:1094–1104

Van Gogh Investigators, Buller HR, Cohen AT, Davidson B et al. (2007b) Extended prophylaxis of venous thromboembolism with idraparinux. N Engl J Med 357:1105–1112

Warkentin TE, Maurer BT, Aster RH (2007) Heparin-induced thrombocytopenia associated with fondaparinux. N Engl J Med 356: 2653–2655

Yusuf S, Mehta SR, Chrolavicius S et al.; Fox KA OASIS-5 Trial Group (2006) Comparison of fondaparinux and enoxaparin in acute coronary syndromes. N Engl J Med 354: 1464–1476

## 51.2 Direkte Thrombin- und FXa-Inhibitoren

*G. Nowak*



Direkte Thrombininhibitoren und FXa-Inhibitoren wirken antikoagulatorisch, indem sie das aktive Zentrum und/oder die Substratbindungsstellen der Proteasen Thrombin und FXa inhibieren. Aktuell zugelassene Thrombininhibitoren sind Hirudin, Bivalirudin, Argatroban und Dabigatran. Die antithrombotische Wirkung von Bivalirudin ist in der interventionellen Kardiologie belegt. Hirudin und Argatroban werden als alternative Antikoagulanzien in der Behandlung von Patienten mit einer heparininduzierten Thrombozytopenie eingesetzt. Dabigatran ist als oral verfügbares Antikoagulans zur Thromboseprophylaxe zugelassen.

Von den in klinischen Studienphasen untersuchten direkten FXa-Inhibitoren wurde das Rivaroxaban 2008 zugelassen. Die Wirksamkeit dieses neuen oralen Antikoagulans für die Thromboseprophylaxe ist belegt.

### 51.2.1 Substanzklassen und Präparate

Die zentrale Serinprotease des Hämostasesystems ist das Thrombin. An der Aktivierung des Thrombins ist unmittelbar der Faktor Xa beteiligt, der in seinem Aktivierungskomplex (Prothrombinase) die limitierte zweistufige Proteolyse des Prothrombins realisiert. Es ist von besonderer Bedeutung, dass von den 5 am Gerinnungsprozess beteiligten Serinproteasen nur Thrombin aus seinem Aktivierungskomplex in das Blut freigesetzt wird und hier mit mehreren Substraten interagiert. Deshalb ist es von hohem Interesse, pharmakologische Wirkprinzipien zur Verfügung zu haben, die entweder in den FXa-Protease-Mechanismus der Prothrombinase eingreifen oder die im Blut zirkulierende Serinprotease Thrombin direkt und dauerhaft inhibieren.

Direkte Thrombininhibitoren und direkte FXa-Inhibitoren sind in der Lage, sofort die Serinproteaseaktivität zu unterbinden und antikoagulatorisch wirksam zu werden. Vor allem aus historischen Gründen wurden zunächst Inhibitoren des Thrombins als Antikoagulanzien bzw. Antithrombine entwickelt, in jüngster Zeit wurde der Hemmung des FXa Aufmerksamkeit geschenkt.

Direkte Thrombininhibitoren gehören unterschiedlichen Substanzgruppen an. ◻ Abb. 51.10 gibt einen schematischen Überblick über die augenblicklich verfügbaren Thrombininhibitoren. Die direkten Thrombininhibitoren können sowohl aus natürlichen Quellen stammen als auch synthetisch hergestellt werden. Thrombin besitzt zusätzlich zum aktiven Zentrum 2 Substratbindungsstellen, die ABE 1 und ABE 2 (»anion binding exosite«).

An der ABE 1 werden natürliche Substrate und auch Hirudin primär auf dem Thrombin so platziert, dass die zu spaltende Molekülregion des Substrats direkt in das aktive Zentrum ragt. Die natürlichen direkten Thrombininhibitoren sind bis auf eine Ausnahme bifunktioneller Natur. Hirudin wird auf der ABE 1 mit dem aliphatischen C-terminalen Teil gebunden und auf dem Thrombin so ausgerichtet, dass die Knäuelregion das aktive Zentrum perfekt abdeckt. Zusätzlich werden die hydrophoben N-terminalen Aminosäuren in der Nähe des aktiven Zentrums zur weiteren Fixierung und Blockade der Aktivitätstasche benutzt.

Bei Hirudin entsteht aufgrund dieser »doppelten Bindungsstrategie« auf dem Thrombin ein fester »slow tight binding« Enzym-Inhibitor-Komplex mit einer sehr geringen Dissoziationskonstante von 27 fmol. In ganz ähnlicher Weise werden auch andere natürliche bifunktionelle Thrombininhibitoren, wie das Dipetalogastin II (aus *Dipetalogaster maximus*) oder die rekombinant hergestellten Fusionspeptide Dipetarudin und Dipetacompin (aus Dipetalogastin II und Hirudin), gebunden.

Im Gegensatz dazu wird das Triabin, ein monofunktioneller natürlicher direkter Thrombininhibitor aus *Triatoma pallidipennis*, nur an der ABE 1 gebunden, ohne dabei mit dem aktiven Zentrum des Thrombins zu interagieren. Die Bindung an der ABE 1 ist fest und spezifisch, kleine Substrate und monofunktionelle »active site«-gerichtete Inhibitoren können noch mit dem aktiven Zentrum interagieren. Dagegen ist die Bindung an alle natürlichen Substrate nicht mehr möglich.

Synthetische direkte Thrombininhibitoren stehen im Fokus der Synthesechemie seit den 1970er-Jahren. Nachdem man erkannt hatte, dass die Spaltungstriade des aktiven Zentrums des Thrombins durch das Tripeptid Phe-Pro-Arg gebunden wird, sind abgeleitet vom Tripeptidvorbild eine Reihe von Di- und Tripeptiden entwickelt worden, die eine hohe Affinität zum aktiven Zentrum des Thrombins aufweisen. Diese kleinmolekularen synthetischen

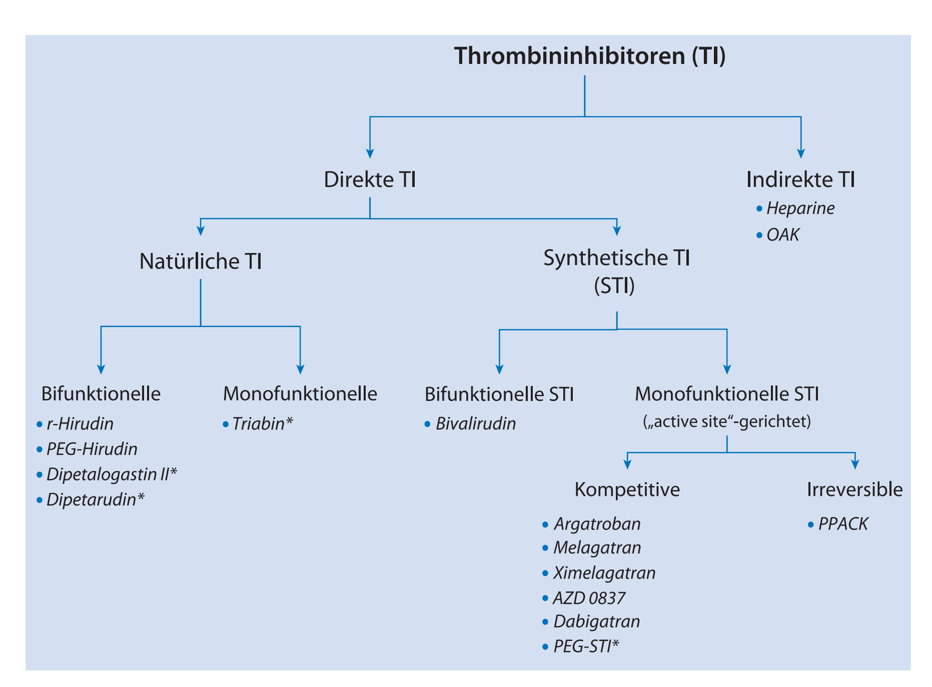



**Abb. 51.10.** Schematische Übersicht über die Thrombininhibitoren. * Bisher nur präklinisch charakterisiert. *OAK* orale Antikkoagulanzien; *PPACK* Phe-Pro-Arg-Chlormethylketon

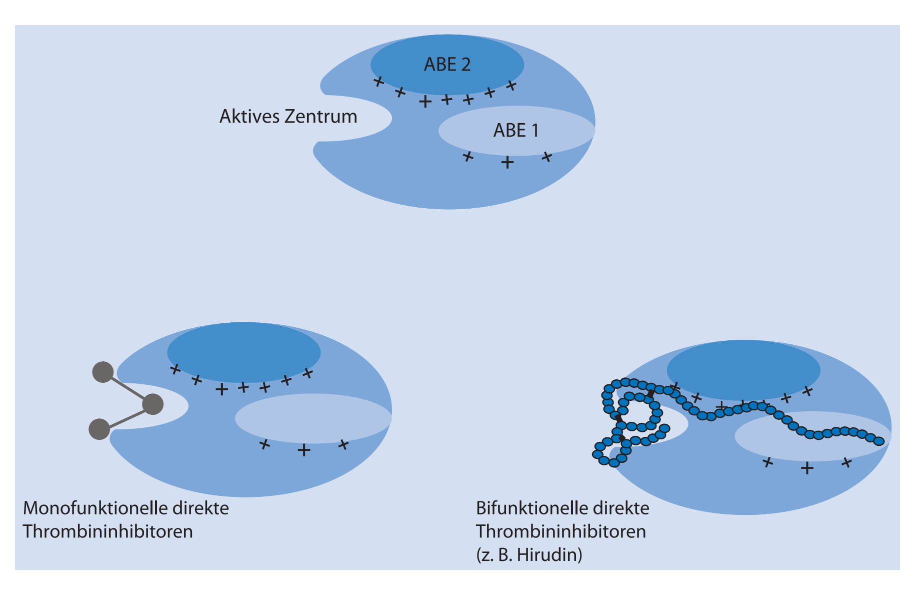



**Abb. 51.11.** Schematische Darstellung des aktiven Zentrums und der Substraterkennungsregion des Thrombinmoleküls. Bifunktionelle direkte Thrombininhibitoren interagieren mit der ABE 1 (»anion binding exosite«) und der Umgebung des aktiven Zentrums, monofunktionelle Thrombininhibitoren füllen das aktive Zentrum aus

Thrombininhibitoren sind alle monofunktionell, d. h. sie sind nur gegen das aktive Zentrum gerichtet, aber unterscheiden sich durch ihren Wirkungsmechanismus. Sie können entweder kompetitiv oder irreversibel das aktive Zentrum blockieren.

Die in der klinischen Praxis bereits angewendeten kompetitiven monofunktionellen synthetischen Thrombininhibitoren sind unterschiedlicher chemischer Natur (Abb. 51.10). 1986 wurde Agratroban, 2004 Melagatran und 2008 Dabigatran in die Therapie eingeführt. Aussichtsreiche weitere synthetische Thrombininhibitoren sind auch polyethylenglykolgekoppelte synthetische Thrombininhibitoren. Als ein einziger Vertreter der irreversiblen monofunktionellen synthetischen Thrombininhibitoren steht

PPACK für In-vitro-Anwendungen zur Verfügung. Dieses PPACK ist ein Phe-Pro-Arg-Chlormethylketon, welches die Spaltungstriade des Thrombins irreversibel verändert, sodass die Proteaseaktivität verloren geht.

Eine bifunktionelle Variante der synthetischen Thrombininhibitoren stellt das Bivalirudin dar, welches strukturell dem Hirudin ähnlich ist. Bei Bivalirudin wurde ein C-terminaler Anteil des Hirudins (12 Aminosäuren) benutzt und über einen vierfachen Glycinspacer die Phe-Pro-Arg-(Pro-)Struktur angehangen, die dann mit der Spaltungstriade interagiert und dort langsam gespalten wird. Demnach stellt Bivalirudin letztendlich einen Suizidinhibitor des Thrombins dar.

## 51.2.2 Direkte Thrombininhibitoren

### r-Hirudin

Der britische Physiologe Haycraft lokalisierte 1884 das gerinnungshemmende Prinzip in den kranialen Speicheldrüsen von Blutegeln (*Hirudo medicinalis*), doch erst 100 Jahre später war es möglich, rekombinantes Hirudin großtechnisch herzustellen und therapeutisch zu nutzen. Seit 1997 wird r-Hirudin (Lepirudin) klinisch verwendet.

**! Hirudin ist ein einkettiges Polypeptid aus 65 Aminosäuren mit einem Molekulargewicht von 7 kDa und gegen extreme pH-Werte und hohe Temperaturen sehr stabil.**

Charakteristisch für Hirudin ist die große Anzahl von sauren Aminosäureresten, v. a. am C-Terminus. Weiterhin fehlen die Aminosäuren Methionin, Arginin und Tryptophan in der Aminosäuresequenz des Hirudins. Es sind 11 Isohirudine bisher beschrieben worden, bei der rekombinanten Expression wird nur die Hirudinvariante 1 verwendet. Das natürliche Hirudin unterscheidet sich von dem naturidentischen rekombinanten Hirudin lediglich in der Aminosäure Tyrosin 63, die im natürlichen Hirudin sulfatiert ist (r-Hirudine sind »Desulfatohirudine«).

### Wirkmechanismus

Hirudin und α-Thrombin bilden einen hoch affinen stöchiometrischen Komplex im Verhältnis 1:1. Dadurch kann Thrombin nicht mehr seine natürlichen Substrate (Fibrinogen, Protein C, Faktor V, VIII, XI und XIII) spalten. Ebenso kann es nicht mehr an zelluläre Rezeptoren (endotheliales Thrombomodulin, GP Ibα, proteaseaktivierte Rezeptoren) binden.

Für die Interaktion mit Thrombin wird nahezu die gesamte Molekülstruktur des Hirudins benutzt. Hirudin ist ein bifunktioneller Inhibitor, d. h. er interagiert sowohl mit dem aktiven Zentrum des Thrombins als auch mit der ABE 1. Die durch 3 Disulfidbrücken stabilisierte Knotenregion des Hirudins hat eine hohe Affinität zu Bindungsstellen im Bereich des aktiven Zentrums. Zusätzlich befindet sich in der Nähe des aktiven Zentrums eine apolare Bindungsregion, mit der das hydrophobe N-terminale Ende des Hirudins interagiert. Hirudin und Thrombin verbinden sich mit einer »slow tight-binding«-Kinetik, d. h. der Enzym-Inhibitor-Komplex ist zwar prinzipiell reversibel, aber sehr fest und besitzt eine äußerst geringe Dissoziationskonstante. Hirudin ist in der Lage, sowohl freies als auch clotgebundenes Thrombin zu hemmen.

R-Hirudin-Plasmaspiegel zwischen 0,05 und 0,5 µg/ml reichen bereits aus, um experimentelle arterielle und venöse Thrombosen zu verhindern. Daneben hemmt Hirudin alle bisher bekannten Interaktionen von Thrombin mit zellständigen Thrombinrezeptoren von Plättchen, Fibroblasten, Lymphozyten und Makrophagen. R-Hirudin verhindert thrombinbedingte Kontraktionen glatter Muskelzellen, rezeptorvermittelte Reaktionen von Endothelzellen und – wie in experimentellen Tumormodellen nachgewiesen wurde – das Wachstum von humanen Tumorzellen.

### Indikationen

Nach umfänglichen klinischen Studien wurden für r-Hirudin 3 Indikationsgebiete positiv evaluiert und zugelassen:

- Thromboembolieprophylaxe bei Hüft- und Kniegelenkersatzoperationen,
- Therapie thromboembolischer Komplikationen bei heparininduzierter Thrombozytopenie Typ II (HIT II),
- Prävention der Restenose nach PTCA.

Für die Thromboembolieprophylaxe in der orthopädischen Chirurgie ist das verwendete Desirudin (Revasc®) den fraktionierten Heparinen deutlich überlegen. Dieses Präparat wurde 2005 zeitweilig vom Markt genommen, steht aber wieder für die subkutane Applikation zur Verfügung.

Obwohl die Studienergebnisse der Restenoseprävention eine Überlegenheit gegenüber der Applikation von Heparin gezeigt haben (Helvetica-Studie: Serruys 1995) und die Zulassung dafür erfolgte, wurde Lepirudin für diese Indikation bisher nicht in den Markt eingeführt. Einzig die Indikation »Prophylaxe und Therapie der HIT II« ist für Lepirudin (Refludan®)erhalten geblieben.

Als Antikoagulans bei der Hämodialyse hat Lepirudin ebenfalls viele Vorteile. Die benötigten Lepirudindosen sind sehr niedrig (3–8 mg) und damit ist eine Therapie kostengünstig. Langjährige Erfahrungen mit Patienten, die persistierende HIT-II-Antikörper entwickelt hatten, ergaben einen wirksamen Blutspiegel für Lepirudin von 0,2–0,7 µg/ml.

Zusammengefasst kann Hirudin bei HIT-Patienten eingesetzt werden

- zur Prophylaxe und Therapie von venösen und arteriellen Thrombosen,
- beim akuten Koronarsyndrom,
- zur Hämodialye und Hämoperfusion.

Weitere Indikationen im Sinne eines Therapieversuches zur singulären Lepirudinanwendung sind:

- hereditärer und erworbener Antihrombinmangel,
- Therapie von Schlangenbisskrankheiten, die durch prothrombin- bzw. thrombinaktivierende Gifte ausgelöst werden (Russelvipern, Echis- und Notechisarten)
- Tumortherapie

### Dosierung und Applikation

Bedingt durch die Proteinstruktur ist Lepirudin nicht oral, sondern nur parenteral anwendbar und wird nach intravenöser Applikation rasch im Extrazellularraum gleichmäßig verteilt. Die Eliminationshalbwertszeit für Lepirudin nach intravenöser Bolusapplikation beträgt 60–80 min und ist dosisunabhängig. Lepirudin wird in den Nieren durch glomeruläre Filtration mit einer renalen Clearance von 120–140 ml/min vollständig aus dem Blut entfernt. Lepirudin wird nicht tubulär reabsorbiert, jedoch durch extrinsische Proteasen der proximalen Tubuluszellen am C-terminalen Ende proteolytisch um 4–5 Aminosäuren verkürzt. Dieses Urohirudin hat eine geringere Affinität zum Thrombin. Aufgrund dieser partiellen Degradierung werden nur etwa 40–50% der applizierten Antithrombinaktivität im menschlichen Urin nachgewiesen. Lepirudin wird nicht in der Leber metabolisiert und geht nicht in die Muttermilch über (Lindhoff-Last et al. 2000). Nach subkutaner oder intramuskulärer Applikation ist eine maximale Plasmakonzentration nach etwa 100 min erreicht. Die Eliminationshalbwertszeit nach subkutaner Applikation beträgt 2–5 h. Die Bioverfügbarkeit nach extravasaler Gabe beträgt nahezu 100%.

Durch die Molekulargewichtserweiterung des Hirudins mit Polyethylenglykol (PEG) wird die Pharmakokinetik stark verändert. PEG-Hirudine haben Eliminationshalbwertszeiten von 10–16 h. Sie haben keine antigene Wirkung mehr und sind für einige spezielle Indikationen, wie z. B. die Langzeitantikoagulation und die Tumortherapie, von besonderem Interesse.

> **! Bei der klinischen Anwendung konnte gezeigt werden, dass Lepirudin ein optimales therapeutisches Blutspiegelfenster im Bereich von 0,1–0,8 μg/ml hat.**

Durch die direkte thrombininhibierende Wirkung des Lepirudins ist eine sofortige Antikoagulation in der Akutmedizin möglich. Nur in außergewöhnlichen Notsituationen sollte einleitend Lepirudin als Bolus (0,2–0,4 mg/kgKG) appliziert werden. In der klinischen Routine ist die Infusion von Lepirudin in einer Dosierung von 0,15–0,2 mg/kgKG/h vorzuziehen. Nach wiederholter subkutaner Applikation (2- bzw. 3-mal täglich) von 0,2 mg/kgKG kann zur Thromboseprophylaxe ein relativ konstanter Plasmaspiegel von 0,2–0,5 μg/ml erreicht werden.

Bei Anwendung von Lepirudin muss ein effektives Drug-Monitoring durchgeführt werden, um den Patienten z. B. bei eingeschränkter Nierenfunktion vor einer Überdosierung mit den entsprechenden Folgeerscheinungen zu schützen (► Kap. 71).

Aber auch bei Patienten mit akuter HIT II ist ein engmaschiges Monitoring der Lepirudintherapie erforderlich. In ■ Abb. 51.12 ist ein typischer Fall eines HIT-II-induzierten zerebralen Insults dargestellt. Obwohl der Patient keine Nierenfunktionseinschränkung hatte, musste bei Beachtung des therapeutischen Plasmaspiegelfensters von 0,8–1 μg/ml Lepirudin die langzeitige Lepirudininfusion deutlich in der Dosis reduziert werden. Letztendlich reichten 10% der Startdosis aus, um die verstärkte Thrombingenerierung zu antagonisieren. Der Patient konnte nach 52 Tagen kombinierter Infusions- und Subkutanapplikation ohne Residuen auf orale Antikoagulation umgestellt werden.

> **! Ein Antidot ist kommerziell nicht verfügbar. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass humanes Meizothrombin, stabilisiert mit Polyethylenglykol-(PEG-) Ketten, ein perfektes Antidot für Lepirudin darstellt.**

Bei akutem Nierenversagen während einer Hirudintherapie, aber auch bei iatrogenen Intoxikationen, kann durch Hämodialyse mit High-Flux-Membranen Hirudin effizient aus dem Organismus entfernt werden. Obwohl in tierexperimentellen Untersuchungen hohe Lepirudindosen ohne akute toxische Reaktionen vertragen wurden, ist beim Menschen ab einem Blutspiegel von 2 μg/ml mit Nebenwirkungen zu rechnen, die sich v. a. in Form von Haut- und Schleimhautblutungen zeigen können.

### Nebenwirkungen

Mit Nebenwirkungen ist bei der Anwendung von r-Hirudin v. a. wegen der Peptidstruktur des Pharmakons zu rechnen. Transiente Antikörper wurden 6–10 Tage nach Beginn der Hirudintherapie bei etwa 40% der Patienten nachgewiesen, die aber keine pathophysiologische Relevanz haben. In den meisten Fällen handelt es sich um »stumme« Antikörper, die keine Änderung des Dosisregimes erfordern. In seltenen Fällen verlängern die Antikörper die Halbwertszeit des Hirudins (antikoagulativ wirksame Hirudin-Antikörper-Komplexe), sodass über längere Zeit ein basaler wirksamer Antithrombinspiegel nachweisbar ist (biologische Halbwertszeit der IgG-Antikörper: 18–20 Tage!).

Als Kontraindikation gilt eine bekannte Überempfindlichkeit gegenüber Hirudinpräparaten. Diese sehr seltenen Ereignisse (0,015% aller Behandelten) können zu lebensbedrohlichen Zuständen führen. Aber auch aktive Blutungen, wie z. B. bei einer subakuten bakteriellen Endokarditis, oder hämorrhagische Diathesen stellen relative Kontraindikationen für r-Hirudin dar. Wechselwirkungen im Sinne von Blutungskomplikationen können bei gleichzeitiger Anwendung von Thrombolytika oder Plättchenaggregations-

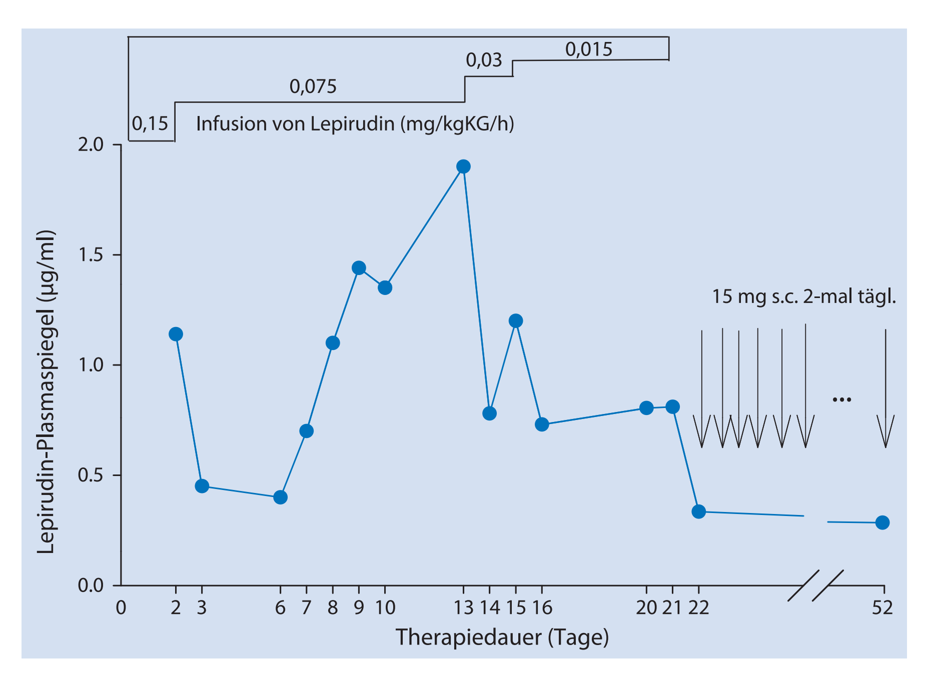



**Abb. 51.12.** Steuerung des Lepirudinbedarfs zur Therapie eines Schlaganfalls bei HIT Typ II. Patient W.K., 49 Jahre, männlich, Kniearthroplastikoperation, postoperative Thromboseprophylaxe mit 40 mg Certoparin-Natrium s.c. Am 18. Tag postoperativ Schlaganfall bei Thrombozytopenie, HIT-II-Antikörper-Nachweis positiv. Therapiebeginn mit Lepirudin (Refludan®) 0,15 mg/kgKG pro Stunde. Nach 48 h erstes Drug-Monitoring (»ecarin clotting time«, ECT) und Reduzierung der Infusionsdosis auf 0,075 mg/kgKG pro Stunde, am 13. Tag weitere Reduktion auf 0,03 mg/kgKG pro Stunde. Am 15. Tag wieder Anstieg des Plasmaspiegels auf >1 µg/ml, deshalb Einstellung der Infusionsdosis auf 0,015 mg/kgKG pro Stunde (10% der Startdosis!). Daraufhin konstanter Plasmaspiegel von 0,7–0,8 µg/ml. Ab 22. Tag Weiterbehandlung mit Refludan® 15 mg s.c. 2-mal täglich bis zum 52. Tag

hemmern auftreten. Eine dauerhaft gemeinsame Anwendung von Lepirudin und oralen Antikoagulanzien ist aufgrund des stark erhöhten Blutungsrisikos ebenfalls kontraindiziert.

## Argatroban

### Wirkmechanismus

Argatroban ist ein synthetischer direkter Thrombininhibitor, der von L-Arginin abgeleitet wurde und chemisch ein Piperidinderivat darstellt. Argatroban war der erste in die Therapie eingeführte monovalente Thrombininhibitor (1986, Japan) und ist eine Mischung aus R- und S-Stereoisomeren im Verhältnis 65:35. Das Molekulargewicht beträgt 527 Da.

Argatroban bindet reversibel an das aktive Zentrum des Thrombins. Es blockiert alle enzymatischen Wirkungen des Thrombins auf Proteinsubstrate und auf zelluläre Rezeptoren. Der Enzyminhibitormechanismus des Argatrobans ist kompetitiv, die Inhibitorkonstante Ki beträgt 40 nmol/l. Argatroban ist in der Lage, sowohl freies als auch clotgebundenes Thrombin zu inhibieren. Argatroban bindet an Plasmaproteine zu etwa 60%, dabei werden 35% des Argatrobans an α1-saures Glykoprotein gebunden, 25% an Albumin.

### Indikationen

Argatroban (Argatra®, Novastan®) ist für die Akuttherapie von Gerinnungskrankheiten zugelassen, die durch HIT-II-Antikörper induziert werden.

**! Zur Antikoagulation von Hämodialysepatienten, bei denen HIT-II-Antikörper nachgewiesen wurden, kann Argatroban während der gesamten Nierenersatztherapiezeit als Infusion angewendet werden. Nach Beendigung der Dialysesitzung ist innerhalb von 0,5–1 h die antikoagulative Wirkung des Argatrobans im Blut abgeklungen.**

Für die Indikation chronische Dialyse bei HIT-II-Syndrom bietet sich deshalb Argatroban an, weil es bei blutungskompromittierten Patienten in therapeutischen Dosen die Blutungsneigung nur sehr gering verstärkt. In einigen Studien konnte gezeigt werden, dass Nierenfunktionsstörungen auf die Pharmakokinetik von Argatroban keinen Einfluss hatten. Dementsprechend ist bei HIT-II-Patienten Argatroban eine Alternative zu Orgaran® oder Refludan®.

### Dosierung und Applikation

Weil Argatroban in wässrigen Lösungen schwer lösbar ist, aber leicht löslich in Ethanol, wird es in wässrig-alkoho-

lischen Lösungen zur Anwendung gebracht. Argatroban ist oral nicht resorbierbar und kann nur in größeren Applikationsvolumina intravenös infundiert werden.

**! Nach Fachinformation beträgt die Standarddosierung für Argatroban 2 µg/kgKG/min. Erste Erfahrungen zeigen, dass oft Dosierungen von 1 µg/kgKG/min ausreichend sind.**

Ein Monitoring ist mit der APTT (aktivierte partielle Thromboplastinzeit) und der ACT (»activated clotting time«) möglich. Die APTT sollte während der Argatrobanbehandlung die 2- bis 2,5-fache Verlängerung des mittleren Referenzbereichs (in der Regel 80 s) nicht übersteigen. Für die ACT ist ein therapeutisches Fenster mit 300 s definiert worden. Je nach ACT-Wert wird die Infusionsdosis vermindert bzw. durch Bolusdosen angehoben. Bei einer Hämofiltration und/oder Dialyse sollte bei der Behandlung alle 20–30 min eine ACT-Kontrolle erfolgen. Ein Monitoring der Wirkung ist bei hohen Wirkspiegeln mit der APTT und der ACT nur bedingt möglich, da bei höheren Plasmakonzentrationen von Argatroban die Präzision stark nachlässt. Es ist besser, mit Meizothrombingenerierungstests (»ecarin clotting time [ECT], »ecarin chromogenic assay« [ECA]) ein engmaschiges Monitoring während der Behandlung durchzuführen, um Überdosierungen zu vermeiden.

Argatroban verteilt sich ausschließlich im extrazellulären Wasserraum, das Verteilungsvolumen beträgt dementsprechend 0,15–0,2 l/kgKG. Der Hauptausscheidungsweg ist die enterale Elimination via Leber und Galle. Innerhalb von 48 h werden etwa 60–65% der applizierten Argatrobandosis mit den Fäzes ausgeschieden. Nur ein kleinerer Teil des Argatrobans passiert die Glomerula der Niere und wird auf diesem Wege aus dem Körper entfernt. Ob es sich hier um wasserlöslichere Metaboliten handelt, ist noch nicht eindeutig geklärt. Der Anteil von Metaboliten (von Argatroban existieren 4 Metaboliten, nur Metabolit 1 ist in quantifizierbaren Mengen in Fäzes und Urin darzustellen) an der eliminierten Substanz ist mit maximal 5% gering. Der Lebermetabolismus via Cytochromoxidasen spielt keine Rolle. Der Metabolit 1 ist etwa 4-fach schwächer wirksam als die Muttersubstanz.

Es ist aufgrund des Haupteliminationswegs Leber von Bedeutung, bei Patienten mit eingeschränkter oder stark gestörter Leberfunktion die Argatrobandosis anzupassen (z. B. 0,5 µg/kgKG/min) und ein therapeutisches Drug-Monitoring durchzuführen. Die Surrogatmarker APTT, ACT oder Thrombinzeit sind hierzu nur bedingt geeignet, weil durch die gestörte Leberproteinsynthese Gerinnungsfaktorendefizite auftreten können, die die Gerinnungstests massiv stören. Hier sind quantitative Drug-Monitoring-Verfahren (z. B. ECA) dringend notwendig, da sie autonom Argatrobanspiegel messen (▶ Kap. 71).

### Nebenwirkungen

Unerwünschte Wirkungen sind im Wesentlichen durch akzidentielle Überdosierung des Argatrobans bedingt und beziehen sich auf Blutungskomplikationen. Die häufigsten Blutungen treten im Gastrointestinaltrakt und Urogenitaltrakt (Hämaturie) auf. Andere unerwünschte Wirkungen sind in den Argatroban-HIT-Studien bei 8% der Patienten aufgetreten (Dyspnoe, aber auch Hypotension und Fieberreaktionen). Bei sehr kurzen Anwendungen, wie z. B. in der interventionellen Kardiologie, sind nur geringe Nebenwirkungsraten zu verzeichnen.

**! Für die Argatrobantherapie gilt generell, je länger die Argatrobanapplikation beim Patienten dauert, umso häufiger ist mit Nebenwirkungen zu rechnen.**

Möglichkeiten zur Eindämmung von unerwünschten Wirkungen, v. a. der Blutungskomplikationen, sind mit einem engmaschigen quantitativen Drug-Monitoring und der Definition von therapeutischen Plasmaspiegelfenstern für Argatroban gegeben.

## Bivalirudin

### Wirkmechanismus

Bivalirudin ist ein synthetisches Analogon von Hirudin und besteht aus 20 Aminosäuren. Bivalirudin ist der erste Vertreter von bifunktionellen synthetischen Thrombininhibitoren, der mit den beiden Bindungsstellen des Thrombins, der ABE 1 und dem aktiven Zentrum, reagiert. Bivalirudin setzt sich aus 2 Molekülanteilen zusammen, zum einen aus der N-terminalen Aminosäuresequenz Phe-Pro-Arg-Pro, die mit dem aktiven Zentrum des Thrombins interagiert und zum anderen aus der kompletten C-terminalen Endstruktur des r-Hirudins (Aminosäuren 54–65).

Dieser Hirudinanteil, der auch als Hirogen oder Dodekapeptid bezeichnet wird, ist wie beim r-Hirudin die Erkennungsstruktur für die ABE 1 und platziert das Bivalirudin auf dem Thrombin. Damit zwischen der ABE 1 und dem aktiven Zentrum die »Lücke« geschlossen wird, wurden als Verbindungspeptid 4 Glycinreste in das Molekül eingefügt. Nach der Besetzung der Spaltungstriade des aktiven Zentrums von Thrombin kommt es zu einer langsamen Abspaltung des Phe-Pro-Arg-Molekülanteils, sodass das aktive Zentrum des Thrombins wieder reaktiviert und frei ist.

Das Bivalirudinderivat mit dem Dodekapeptid, das an der ABE 1 kompetitiv gebunden war, wird ebenfalls wieder abgelöst, sodass das Thrombin seine physiologische ursprüngliche Struktur und Funktion wiedererlangt. Bivalirudin ist in der Lage, auch clotgebundenes Thrombin zu inhibieren.

### Indikation

Bivalirudin (Angiox®) wird als Antikoagulans für Patienten benutzt, die sich einer perkutanen Koronarintervention

(PCI) unterziehen. Wie die Studienergebnisse der 2006 publizierten ACUITY-Studie gezeigt haben, ist die Kombination mit Clopidogrel gegenüber der bisherigen Standardbehandlung mit Heparin plus GP-IIb-IIIa-Rezeptorantagonisten mindestens gleich wirksam oder überlegen (Stone 2006).

### Dosierung und Applikation

**Bivalirudin wird nach initialem Bolus von 0,75 mg/kgKG anschließend als Infusion 1,15 mg/kgKG pro Stunde während der PCI appliziert. Am Ende der Koronarintervention (1–4 h) wird die Infusion beendet.**

Die weitere antithrombotische Prophylaxe wird ausschließlich mit der dualen plättcheninhibitorischen Behandlung mit Clopidogrel und ASS durchgeführt.

Bei normaler Nierenfunktion wird Bivalirudin zu etwa 20% renal eliminiert und zu 80% durch den proteolytischen Abbau im aktiven Zentrum des Thrombins degradiert und aus dem Plasma entfernt. Die Eliminationshalbwertszeit beträgt bei Nierengesunden 23–25 min, bei eingeschränkter Nierenfunktion verlängert sich die Halbwertszeit auf 60–90 min.

Bivalirudin wird mit Ausnahme des Thrombins nicht an Plasmaproteine gebunden. Durch die ultrakurze Anwendungszeit des Bivalirudins ist die Gefahr einer Überdosierung nicht gegeben. Trotzdem sollte bei einer durch Komplikationen während der PCI erforderlichen länger dauernden Anwendung oder bei Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion ein therapeutisches Drug-Monitoring durchgeführt werden. In der Regel ist ein Drug-Monitoring aufgrund der Kürze der Applikation nicht erforderlich (zum Drug-Monitoring vgl. ► Kap. 71).

### Nebenwirkungen

Bivalirudin hat in den klinischen Zulassungsstudien (REPLACE-1 und ACUITY) eine deutlich geringere Blutungsneigung im Vergleich zu mit Heparin behandelten Patienten gezeigt (Lincoff et al. 2002; Stone et al. 2006). Es ist bei 3–5% der Behandelten mit hämorrhagischen Nebenwirkungen zu rechnen.

Wie alle anderen hoch effektiven Antikoagulanzien sollte Bivalirudin nicht bei akuten Blutungen und bei Patienten mit aktiven Ulzera des Magen-Darm-Trakts verabreicht werden. Wechselwirkungen mit anderen Pharmaka sind bisher nicht bekannt.

## Melagatran und Ximelagatran

### Wirkmechanismus

Nachdem in den 1960er-Jahren aufgeklärt wurde, wie die Fibrinopeptide des Fibrinogens durch Thrombin abgespalten werden, wurde versucht, die typische Aminosäuresequenz dieser Fibrinopeptide, die mit der Spaltungstriade des Thrombins interagieren, als Ausgangspunkt für die Synthese kleinmolekularer Thrombininhibitoren zu nutzen. Die Tripeptidsequenz Phe-Pro-Arg wurde nun Leitsubstanz für synthetische Thrombininhibitoren, und eine große Anzahl direkter Thrombininhibitoren wurde entwickelt.

In den 1990er-Jahren wurde das »Peptidomimetikum« Melagatran synthetisiert, das mit einem Ki-Wert von 2 nmol einen aussichtsreichen Kandidaten zur Verwendung am Menschen darstellte. Die orale Resorptionsquote des Melagatrans war jedoch zu gering und variierte stark. Als Ursache war das Vorhandensein von Serinproteasen des Darms anzusehen. Durch Derivatisierung von Melagatran wurde ein Prodrug entwickelt, das auch gegen enterale Serinproteasen inaktiv ist und erst nach Resorption aus dem Magen-Darm-Kanal durch unspezifische Enzyme im Blut und in der Leber zu der aktiven Form Melagatran umgewandelt wird. Dieses Prodrug Ximelagatran war der erste Vertreter der oralen direkten Thrombininhibitoren in der Klinik.

Melagatran interagiert mit dem aktiven Zentrum des Thrombins, der Wirkungsmechanismus ist kompetitiv. Faktor Xa, Plasmin und Chymotrypsin werden in weit geringerem Maße inhibiert als Thrombin. Melagatran wird nur gering an Plasmaproteine gebunden und wird zum Teil in unveränderter Form über die Nieren ausgeschieden, der größere Anteil der Substanz wird enteral – häufig nach Metabolitenbildung – via Leber und Gallenflüssigkeit eliminiert. Die Eliminationshalbwertszeit für Melagatran beträgt 45–60 min. Ximelagatran hat einen maximalen Resorptionspeak nach etwa 1,5–2 h und ist bis zu 10 h als aktives Melagatran im Blut nachweisbar.

### Indikationen

Melagatran und Ximelagatran (Melagatran, Exanta®) wurden 2004 in Europa zur Prophylaxe thromboembolischer Komplikationen nach Knie- und Hüftgelenkersatz zugelassen. Ausgedehnte Studien mit der oral verfügbaren Substanz Ximelagatran zur Thromboembolieprophylaxe und zur Verhinderung von Hirninfarkten bei Patienten mit Vorhofflimmern haben ein ausgezeichnetes Nutzen-Risiko-Verhältnis aufgewiesen.

**2006 erfolgte jedoch aufgrund von hepatischen Nebenwirkungen, die bei klinischen Langzeitstudien auftraten, die freiwillige Marktrücknahme der Präparate durch den Hersteller.**

### Dosierung und Applikation

Die Dosierung von Ximelagatran betrug 2-mal täglich 24 mg. Damit konnten konstante wirksame Blutspiegel bei den Patienten erreicht werden. Adäquate Blutspiegel waren durch subkutane Applikation von 3 mg Melagatran 2-mal täglich möglich. Da Melagatran zum Teil über die Nieren

ausgeschieden wird, hat eine stärker gestörte Nierenfunktion einen Einfluss auf den Blutspiegel der Substanz. Deshalb sollte bei höheren Graden der Nierenfunktionseinschränkung neben einer Dosisanpassung auch ein quantitatives Drug-Monitoring erfolgen, um einer Kumulation der Substanz im Organismus entgegenzuwirken.

### Nebenwirkungen

Die wesentlichste Nebenwirkung von Melagatran waren Blutungen, die bei 4–5% der Behandelten auftraten. Aufgrund der hepatischen Nebenwirkungen, die bei 7–8% der mit Melagatran behandelten Patienten in Form einer mehr als 3-fach erhöhten Alanintransferaseaktivität nachgewiesen wurden, waren akute und chronische Lebererkrankungen Kontraindikationen für Melagatran. Eine gleichzeitige Verwendung von Melagatran bei Patienten, die mit oralen Antikoagulanzien oder Heparinpräparaten behandelt werden, ist wegen der drohenden Potenzierung der Blutungsneigung obsolet.

Die unerwünschten Wirkungen, die sich im Wesentlichen auf den bisher in seinen Ursachen ungeklärten Anstieg von Leberenzymen beziehen, könnten in einer Substanzkumulation in den Leberzellen begründet sein, da in jüngeren Studienergebnissen eine deutliche Abhängigkeit der Erhöhung der Transaminasen von der verwendeten Dosis des Ximelagatrans zu erkennen war. Eine Nachfolgesubstanz, AZD 0837, wird augenblicklich in Phase-III-Studien untersucht.

### Dabigatran

### Wirkmechanismus

Ein weiterer direkter Thrombininhibitor, das Dabigatran, ist seit Frühjahr 2008 zugelassen. Dabigatran ist ein spezifischer kompetitiver, reversibler monovalenter Inhibitor für fibringebundenes und freies Thrombin. Dabigatran wird ähnlich wie Melagatran in Form eines oralen inaktiven Prodrugs, dem Dabigatranetexilat (Pradaxa®) konfektioniert. Dabigatranetexilat wird durch unspezifische Enzyme des Blutes rasch in die aktive Wirkform konvertiert.

Die absolute Bioverfügbarkeit (orale Resorptionsquote) beträgt 3,5–5%, die maximale Peak-Konzentration ist nach 2 h erreicht. Dabigatran bindet im Blut zu etwa 35% an Plasmaproteine. Es hat eine terminale Halbwertszeit von 14–17 h und wird renal eliminiert (>80% der applizierten Dosis, überwiegend in unveränderter Form; Stangier et al. 2007).

### Indikation

Das Indikationsspektrum für Dabigatranetexilat ist identisch mit dem der anderen direkten Thrombininhibitoren. Erste klinische Studienergebnisse haben gezeigt, dass Patienten mit Hüft- und Kniegelenkersatzoperationen von einer Dabigatran-Applikation profitieren. Dabei konnte eindeutig gezeigt werden, dass eine Nichtunterlegenheit gegenüber der Standardapplikation von täglich 40 mg Enoxaparin vorhanden ist (Eriksson et al. 2005). Weitere Zulassungsstudien befassen sich augenblicklich mit den Indikationen Verhinderung der tiefen Beinvenenthrombose und Schlaganfallprophylaxe bei Vorhofflimmern.

### Dosierung und Applikation

Dabigatran wird ausschließlich zur Thromboseprophylaxe nach Hüft- und Kniegelenkersatz eingesetzt.



**Zur medikamentösen Thromboseprophylaxe beträgt die empfohlene Dosis 220 mg 1-mal täglich (eingenommen als 2 Kapseln zu 110 mg). Bei eingeschränkter Nierenfunktion oder einem Alter über 75 Jahre beträgt die empfohlene Dosis 150 mg.**

Dabigatran zeigt eine gute Korrelation zwischen der Gerinnungszeitverlängerung von Blutgerinnungsassays (APTT, Thrombinzeit, Prothrombinzeit) und der Plasmakonzentration. Ein quantitatives Drug-Monitoring sollte jedoch mit Meizothrombingenerierungstests durchgeführt werden.

### Nebenwirkungen

Dabigatran hat ein überschaubares Sicherheitsprofil. Der bedeutsamste Nebeneffekt bezieht sich auf gesteigerte Blutungsereignisse bei höheren Dosierungen oder in Kombination mit plättcheninhibitorischen Substanzen. Da Dabigatran keine Interaktionen mit den hepatischen Metabolisierungsmechanismen hat, ist ein sehr geringes Potenzial für Substanz-Substanz-Interaktionen anzunehmen.

Die nahezu ausschließliche renale Eliminierung der Substanz kann jedoch zu Problemen bei längerzeitigen Anwendungen führen. Bei Einschränkung renaler Clearance-Leistungen sind schwierig erkennbare Substanzkumulationen möglich, die dann zu unerwünschten Arzneimittelwirkungen führen könnten. Aus Daten einer 33-tägigen Anwendung in Phase-III-Studien war bei 3,5–4% der Patienten ein Anstieg der Alaninaminotransferase (ALAT) auf das 3-fache vom Normwert zu beobachten.

## 51.2.3 Direkte FXa-Inhibitoren

### Wirkmechanismus

Der Faktor Xa ist eine Serinprotease, die in makromolekularen Aktivierungskomplexen auf Phospholipidoberflächen von Zellen und Mikropartikeln strukturgebunden ist. Dementsprechend müssen Inhibitoren in der Lage sein, diese Faktor-Xa-Aktivität in komplexgebundener Form zu erreichen. Im Speziellen handelt es sich hier um den Prothrombinasekomplex, in dem als zentrale Serinprotease der Faktor Xa fungiert, der mit γ-Carboxyglutamatankern via Kalziumbrücken an den negativ geladenen Phospholipidoberflä-

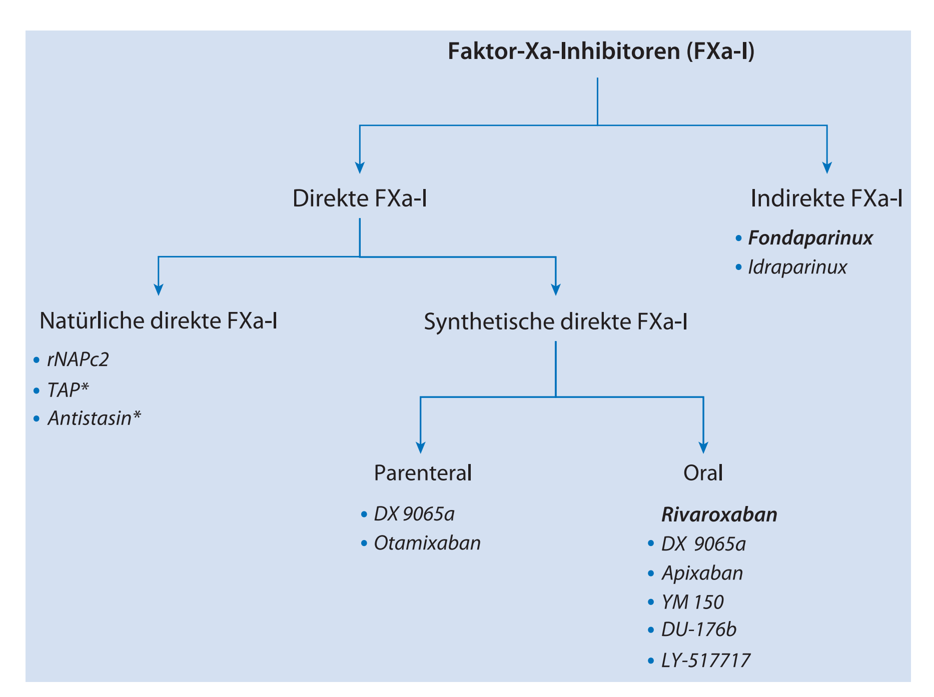



**Abb. 51.13.** Schematische Übersicht über die FXa-Inhibitoren. * Beide Substanzen sind trotz guter antithrombotischer Wirksamkeit wegen Antigenitätsproblemen nicht weiterentwickelt worden

chen anhaftet. Zur Präsentation des aktiven Zentrums des Faktor Xa benötigt dieser noch einen Kofaktor, den FVa.

FVa ist für die molekulare Oberflächenstruktur verantwortlich, um die limitierte zweistufige Proteolyse des Prothrombins zu Thrombin durch FXa optimal durchzuführen. Die synthetischen kleinmolekularen FXa-Inhibitoren sind in der Lage, den FXa in diesem Aktivierungskomplex zu erreichen und direkt ihre inhibitorische Aktivität zu entfalten. In Abb. 51.13 sind alle FXa-Inhibitoren zusammengefasst, die sich augenblicklich in der klinischen Erprobung befinden, mit Ausnahme von Fondaparinux und Rivaroxaban, die bereits zugelassen sind.

Hieraus ergibt sich ein sehr interessantes neues Feld der pharmakologischen Steuerung der Blutgerinnung. In klinischen Studien haben die FXa-Inhibitoren die Nichtunterlegenheit bzw. die Überlegenheit gegenüber der augenblicklichen Standardtherapie bei der Prophylaxe tiefer Beinvenenthrombosen, in ersten Untersuchungen zur Schlaganfallsekundärprophylaxe und bei akutem Koronarsyndrom gezeigt. In weiteren klinischen Studien muss das Nebenwirkungsprofil dieser Substanzen noch präziser dargestellt werden. Neben Blutungskomplikationen sind v. a. mögliche Leberfunktionsbeeinträchtigungen in den Fokus der Untersuchungen zu stellen.

### Rivaroxaban

Rivaroxaban (Xarelto®) wurde im Herbst 2008 zur Thromboembolieprophylaxe nach Hüft- und Kniegelenkersatz zugelassen. Rivaroxaban hat ein Molekulargewicht von 436 Da, einen Ki-Wert von 0,4 nmol/l und eine Eliminationshalbwertszeit von 6–9 h (Kubitza et al. 2005). Die orale Bioverfügbarkeit beträgt etwa 80%. Es kann davon ausgegangen werden, dass Rivaroxaban nahezu komplett aus dem Magen-Darm-Trakt resorbiert wird. Der überwiegende Teil der Substanz wird in unveränderter Form renal eliminiert (66%), 28% werden via hepatisch-biliärer Exkretion mit den Fäzes ausgeschieden (Laux et al. 2007).

**! Zur Thromboembolieprophylaxe ist eine orale Dosis von 10 mg einmal täglich zu verwenden.**

Als Zulassungsindikation für Rivaroxaban wurde die Vorbeugung venöser Thromboembolien nach Kniegelenkersatzoperationen gewählt (RECORD-3-Studie: Lassen 2008). An dieser Studie nahmen etwa 2.500 Patienten teil, Rivaroxaban wurde in einer Dosierung von 10 mg einmal täglich oral eingenommen und mit 40 mg einmal täglich s.c. appliziertem Enoxaparin über 10–14 Tage verglichen. Dabei ergab sich ein statistisch signifikanter Vorteil von Rivaroxaban bei vergleichbaren Blutungsereignissen. Weitere klinische Phase-III-Studien mit Rivaroxaban sind gestartet, sodass mit weiteren Indikationen zu rechnen ist, die sich auch auf Langzeitanwendungen von Rivaroxoban beziehen.

### Apixaban

Apixaban ist ein kompetitiver Inhibitor, der den FXa sowohl gebunden im Prothrombinasekomplex als auch als

freies Enzym inhibiert. Apixaban wird oral nahezu vollständig resorbiert. Es hat ein Molekulargewicht von 460 Da und einen Ki-Wert von 0,8 nmol/l. Die terminale Halbwertszeit beträgt 9–13 h, dadurch ist eine orale Anwendung einmal täglich möglich. Etwa 25% der Substanz werden renal eliminiert, 70–80% werden nach hepato-biliärer Passage mit den Fäzes ausgeschieden. Apixaban wird in der Leber durch Cytochromoxidasen teilweise metabolisch verändert.

In Phase-III-Studien wird Apixaban für verschiedene Indikationen geprüft, z. B. zur Thromboembolieprophylaxe nach Knie- oder Hüftgelenkersatz, bei Patienten mit Vorhofflimmern oder akutem Koronarsyndrom.

### DX-9065a

DX-9065a wurde Anfang der 1990er-Jahre in Japan synthetisiert. DX-9065a wird teilweise oral resorbiert. Dieser FXa-Inhibitor hat ein Molekulargewicht von 432 Da und wird zu etwa 60–70% an Plasmaproteine gebunden. Nach intravenöser Bolusgabe ist eine Eliminationshalbwertszeit von etwa 23 h bestimmt worden, die Substanz wird zu etwa 30–40% über den Urin in unveränderter Form ausgeschieden (Murayama et al. 1999).

Aufgrund des relativ großen Verteilungsvolumens ist anzunehmen, dass die Substanz im Wesentlichen an Albumin gebunden wird. In ersten Phase-II-Untersuchungen konnte sowohl der antikoagulatorische Effekt von DX-9065a anhand von Gerinnungsvariablen als auch eine Nichtunterlegenheit gegenüber unfraktioniertem Heparin bei akutem Koronarsyndrom gezeigt werden (Alexander et al. 2005).

### YM 150

YM 150 ist ein oral gut resorbierbarer FXa-Inhibitor, der aufgrund einer längeren Halbwertszeit nur einmal täglich appliziert werden muss. Der Ki-Wert beträgt 31 nmol/l. In ersten klinischen Untersuchungen wurde bei 30 und 60 mg YM 150 ein dem Enoxaparin überlegenes antithrombotisches Profil festgestellt, stärkere Blutungen wurden bei keinem der Patienten beobachtet (Eriksson et al. 2007). Weitere Phase-II-Studien mit dieser Substanz werden durchgeführt.

### DU-176b

DU-176b, ein oral verfügbarer kompetitiver Inhibitor des FXa mit einem Ki-Wert von 0,6 nmol/l, ist eine Weiterentwicklung von DX-9065a. Diese Substanz ist der bisher stärkste in klinischen Studien verwendete FXa-Inhibitor. Die Substanz erreicht ihren $c_{max}$-Wert nach 1,5 h und ist 12 h nach Einnahme nur noch in geringer Konzentration im Blut nachweisbar (Zafar et al. 2007). Die Eliminationshalbwertszeit beträgt 9–11 h. Die Elimination erfolgt vorwiegend renal. DU-176b wird derzeit in Phase-III-Untersuchungen klinisch evaluiert.

### LY-517717

LY-517717 ist ein oraler kompetitiver FXa-Inhibitor mit einem Molekulargewicht von 460 Da und einem Ki-Wert von etwa 5 nmol/l. Er wird ausreichend aus dem Magen-Darm-Kanal resorbiert und hat eine Eliminationshalbwertszeit von etwa 27 h. 100–150 mg LY-517717 waren in ihrem antithrombotischen Profil der Standardsubstanz Enoxaparin 40 mg täglich s.c. ebenbürtig (Agnelli et al. 2007).

### Otamixaban

Otamixaban ist ein synthetischer FXa-Inhibitor, der nicht oral resorbiert wird und nur für die intravenöse Kurzzeitanwendung zur Verfügung steht. Für die klinische Anwendung ist ein Otamixaban-Bolus mit nachfolgender Infusion für max. 4 h vorgesehen. In ersten Untersuchungen konnte zudem eine gute Verträglichkeit einer Kombination von Otamixaban und Acetylsalicylsäure nachgewiesen werden (Hinder et al. 2006). Hier ergeben sich voraussichtlich interessante neue Aspekte bei der Anwendung eines kompetitiven FXa-Inhibitors bei der akuten kardialen antithrombotischen Therapie.

### rNAPc2

rNAPc2 ist ein 85 Aminosäuren großes Protein, welches aus dem Hakenwurm *Ankylostoma caninum* isoliert wurde und rekombinant zur Verfügung steht. rNAPc2 bindet an eine nichtkatalytische Seite von FX und FXa und hemmt auch den FVIIa. rNAPc2, gebunden an FX, hat eine Halbwertszeit von etwa 50 h, was der biologischen Halbwertszeit von FXa entspricht. Die Anwendung muss parenteral, am besten als subkutane Applikation erfolgen. Dabei wird rNAPc2 jeden zweiten Tag s.c. injiziert. In ersten klinischen Studien konnte eine gute Wirksamkeit zur Verhinderung von venösen Thromboembolien bei elektiver Knieersatzchirurgie gezeigt werden (Lee et al. 2001).

## Literatur

Agnelli G, Haas S, Ginsbrg JS, Krueger KA, Dmitrienko A, Brandt JT (2007) A phase II study of the oral factor Xa inhibitor LY517717 for the prevention of venous thromboembolism after hip or knee replacement. J Thromb Haemostas 5: 746–753

Alexander JH, Yang H, Becker RC et al. on behalf of the XaNADU-ACS Investigators (2005) First experience with direct, selective factor Xa inhibition in patients with non-ST-elevation acute coronary syndromes: results of the XaNADU-ACS Trial. J Thromb Haemost 3: 439–447

Eriksson BI, Dahl OE, Büller HR et al. (2005) A new oral direct thrombin inhibitor, dabigatran etexilate, comparedwith enoxaparin for prevention of thromboembolic events following total hip or knee replacement: the BISTRO II randomized trial. J Thromb Haemostas 3: 103–111

Eriksson BI, Turpie AGG, Lassen MR, Prinss MH, Agnelli G, Kälebo P, Gaillard ML, Meems L for the ONYX study group (2007) A dose escalation study of YM150, an oral direct factor Xa inhibitor, in the prevention of venous thromboembolism in elective primary hip replacement surgery. J Thromb Haemostas 5: 1660–1665

Hinder M, Frick A, Roesenburg R, Hesse G, Ozoux ML, Laux V, Scholtz H, Gebauer A, Paccaly A (2006) Anticoagulant and anti-platelet effects are maintained following coadministration of otamixaban, a direct factor Xa inhibitor, and acetylsalicylic acid. Thromb Haemost 95: 224–228

Kubitza D, Becka M, Wensing G, Voith B, Zuehlsdorf M (2005) Safety, pharmacodynamics, and pharmacokinetics of BAY 59–7939—an oral, direct factor Xa inhibitor—after multiple dosing in healthy male subjects. Eur J Clin Pharmacol 61: 873–880

Lassen MR et al. (2008) Rivaroxaban versus Enoxaparin for Thromboprophylaxis after Total Knee Arthroplasty. N Engl J Med 358: 2776–2786

Laux V, Perzborn E, Kubitza D, Misselwitz F (2007) Preclinical and Clinical Characteristics of Rivaroxaban: A Novel, Oral, Direct Factor Xa Inhibitor. Semin Thromb Hemost 33: 515–523

Lee A, Agnelli G, Büller H et al. (2001) Dose-Respone Study of Recombinant Factor VIIa/Tissue Factor Inhibitor Recombinant Nematode Anticoagulant Protein c2 in Prevention of Postoperative Venous Thromboembolism in Patients Undergoing Total Knee Replacement. Circulation 104: 74–78

Lincoff AM, Bitte JA, Kleiman NS, Kereiakes DJ et al. (2002) The REPLACE 1 trial: a pilot study of bivalirudin versus heparin during percutaneous coronary intervention with stenting and GPIIbIIIa blockade. J Am Coll Cardiol 39: 16–17(2)

Lindhoff-Last E, Willeke A, Thalhammer C, Nowak G, Bauersachs R (2000): Hirudin treatment in a breastfeeding woman. Lancet 355: 467–468

Murayama N, Tanaka M, Kunitada S, Yamada H, Inoue T, Terada Y, Fujita M, Ikeda Y (1999) Tolerability, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of DX-9065a, a new synthetic potent anticoagulant and specific factor Xa inhibitor, in healthy male volunteers. Clin Pharmacol Ther 66: 258–64

Serruys PW, Herrman JP, Simon R, Rutsch W, Bode C, Laarman GJ, van Dijk R, van den Bos AA, Umans VA, Fox KA et al. (1995) A comparison of hirudin with heparin in the prevention of restenosis after coronary angioplasty. Helvetica Investigators. N Engl J Med 333: 757–763

Stangier J, Rathgen K, Stähle H, Gansser D, Roth W (2007) The pharmacokinetics and tolerability of dabigatran etexilate, a new oral direct thrombin inhibitor, in healthy male subjects. Br J Clin Pharmacol 64: 292–303

Stone GW, McLaurin BT, Lox DA, Bertrand ME et al. (2006) Bivalirudin for patients with acure coronary syndromes. New Engl J Med 355: 2203–2216

Zafar MU, Vorchheimer DA, Gaztanaga J et al. (2007) Antithrombotic effects of factor Xa inhibition with DU-176b: Phase-I study of an oral, direct factor Xa inhibitor using an ex-vivo flow chamber. Thromb Haemost 98: 883–888

## 51.3 Vitamin-K-Antagonisten und Vitamin K

*H. Seidel, M. Watzka, J. Oldenburg*




Orale Antikoagulanzien vom Cumarintyp gehören zu den am häufigsten verschriebenen Medikamenten. In den westlichen Ländern nehmen ca. 1–2% der erwachsenen Bevölkerung orale Antikoagulanzien ein. Cumarine blockieren die Aktivität der Vitamin-K-Epoxid-Reduktase und hemmen dadurch die Vitamin-K-abhängige Synthese der Faktoren II, VII, IX und X in der Leberzelle. Aufgrund hoher interindividueller Wirkungsschwankungen muss die Stärke der oralen Antikoagulation durch Bestimmung der INR kontrolliert und die Dosis individuell angepasst werden.

Indikationen sind die Prophylaxe von thromboembolischen Komplikationen bei kardialen Arrhythmien und nach Implantation von Herzklappenprothesen sowie die Sekundärprophylaxe von venösen Thrombosen. Die häufigste Nebenwirkung sind Blutungen. Kommt es zu bedrohlichen Blutungen, ist die Gabe von PPSB-Konzentraten erforderlich.

### 51.3.1 Substanzklassen und Präparate

Handelsübliche Cumarinpräparate in Deutschland sind das Phenprocoumon (Marcumar®, Falithrom®, Marcuphen®, Phenpro®) und weltweit, insbesondere in angelsächsischen Ländern, das Warfarin (Coumadin®). In Österreich, Schweiz, den Niederlanden sowie anderen europäischen Ländern und in Südostasien wird Acenocoumarol unter dem Handelsnamen Sintrom® vertrieben. Es ist in Deutschland nicht mehr erhältlich. Die geographischen Unterschiede sind hauptsächlich historisch und weniger medizinisch begründet. Die Präparate unterscheiden sich nicht in ihrer Wirkungsweise, wohl aber in ihrer Pharmakokinetik (Tab. 51.7). So beträgt die Halbwertszeit von Phenprocoumon ca. 7 Tage, die von Warfarin nur ca. 40 h.

**Tab. 51.7.** Pharmakokinetik von Cumarinderivaten

| Wirkstoff | Halbwertszeit [h] | Wirkungseintritt [h] | Abklingdauer [Tage] |
|---|---|---|---|
| Acenocoumarol | 3–11 | <24 | 2 |
| Warfarin | 30–50 | 36–72 | 3–5 |
| Phenprocoumon | 90–140 | 48–72 | 7–14 |

## 51.3.2 Wirkmechanismus



Cumarine entfalten ihre Wirkung, indem sie direkt an VKORC1 (Vitamin-K-Epoxid-Reduktase) binden und so die Reduktion von Vitamin-K-Epoxid zu Vitamin-K-Chinon und weiter zu Vitamin-K-Hydrochinon inhibieren (Abb. 51.14; Rost et al. 2004). Vitamin-K-Hydrochinon stellt einen essenziellen Kofaktor für die posttranslationale Modifikation der Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren bzw. -inhibitoren dar. Dadurch resultieren verminderte Aktivitäten sowohl der prokoagulatorischen (Faktoren II, VII, IX und X) als auch der inhibitorischen (Protein C und S) Gerinnungsfaktoren, was zu einer verminderten Thrombinbildung und damit zu einem verzögerten Thrombuswachstum führt.

## 51.3.3 Indikationen

Cumarinderivate werden weltweit zur längerfristigen (über mehrere Monate) oder dauerhaften Primär- oder Sekundär- bzw. Rezidivprophylaxe venöser und arterieller thromboembolischer Erkrankungen eingesetzt (Ansell et al. 2008). Einzelne operative Zentren setzen Cumarinderivate auch zur kurzfristigen peri- und postoperativen Thromboembolieprophylaxe bei Eingriffen mit hohem thromboembolischem Risiko ein, z. B. in der elektiven Hüftgelenkersatzchirurgie.

Indikationen zur primären Prophylaxe sind z. B. absolute Arrhythmie bei Vorhofflimmern oder nach mechanischem Herzklappenersatz. Die sekundäre Prophylaxe erfolgt meist nach venösen thromboembolischen Ereignissen. Eine Übersicht über die verschiedenen Indikationen und die Antikoagulationsdauer bzw. -intensität gibt Tab. 51.8. Mit Ausnahme des mechanischen Mitralklappenersatzes (Ziel-INR 2,5–3,5 [4,0]) ist ein Ziel-INR-Bereich von 2,0–3,0 meist ausreichend.

Häufigste Indikation für die orale Antikoagulation ist das Vorhofflimmern (AF; Fuster et al. 2006). Patienten mit Vorhofflimmern haben ein erhöhtes Risiko für zerebrale Insulte. Das Insultrisiko variiert jedoch mit dem AF-Typ und dem vaskulären Risikoprofil, sodass eine differenzierte Primärprävention empfohlen wird.

Am zweithäufigsten werden Patienten mit Zustand nach mechanischem Herzklappenersatz mit Vitamin-K-Antagonisten behandelt. Das Risiko für systemische, meist

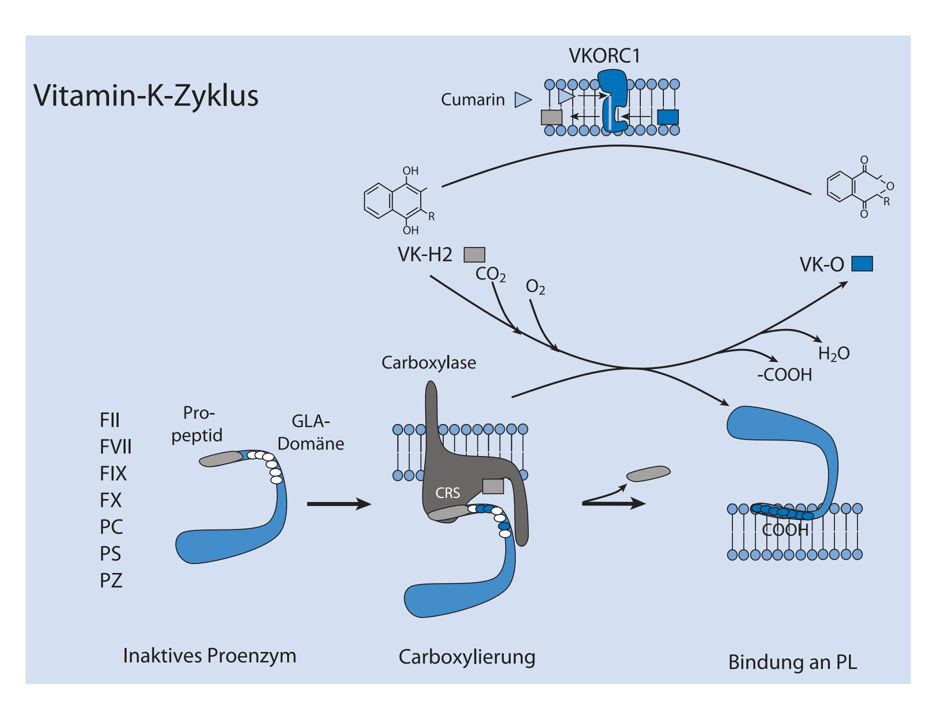



**Abb. 51.14.** Prinzip der oralen Antikoagulation. *PC, PS, PZ* Protein C, S und Z; *PL* Phospholipide; *VKH2* Vitamin-K-Hydrochinon; *VKO* Vitamin-K-2,3-Epoxid; *VKORC1* Vitamin-K-Epoxid-Reduktase

**Tab. 51.8.** Patientengruppen und INR-Zielbereiche der oralen Antikoagulation

| Indikation | Ziel-INR | Zeitdauer |
|---|---|---|
| Persistierendes oder paroxysmales Vorhofflimmern und hohes Thromboembolierisiko | 2,0–3,0 | Dauerhaft |
| **Herzklappenersatz** | | |
| Mechanische Aortenklappe | 2,0–3,0 | Dauerhaft |
| Mechanische Mitralklappe | 2,5–3,5 | Dauerhaft |
| Biologischer Herzklappenersatz | 2,0–3,0 | Fakultativ bis 3 Monate |
| **Prophylaxe venöser thromboembolischer Ereignisse** | | |
| Isoliert distal | 2,0–3,0 | Erstthrombose während typischer Risikosituation: 6 Wochen<br>spontane Erstthrombose und/oder milder genetischer Risikofaktor*: 3–6 Monate |
| Popliteal-femoral | 2,0–3,0 | Erstthrombose während typischer Risikosituation: 3–6 Monate<br>spontane Erstthrombose und/oder milder genetischer Risikofaktor*: 6–12 Monate |
| Iliakal | 2,0–3,0 | Erstthrombose während typischer Risikosituation: 6–12 Monate<br>spontane Erstthrombose und/oder milder genetischer Risikofaktor*: 12–24 Monate |

* Gilt nicht für Antithrombinmangel, Kombinationsdefekte und Antiphospholipidsyndrom

zerebrale Embolien ist dabei für mechanische Klappen größer als bei Klappen aus biologischem Material bzw. für Klappenersatz in Mitralposition als in Aortenposition (Bayliss et al. 2007).

Bei venösen thromboembolischen Ereignissen (weitere Einzelheiten ► Kap. 31.2 und 31.3) reduziert eine Cumarintherapie mit einem Ziel-INR-Bereich von 2,0–3,0 signifikant das Rezidivrisiko. Die Dauer der oralen Antikoagulation ist abhängig von der Thromboselokalisation und weiteren individuelle Risikofaktoren (ACCP-guidelines 2008).

## 51.3.4 Dosierung und Applikation

In der Einleitungsphase sollte die parenterale Antikoagulation mindestens für 3 Tage oder bis zum Erreichen eines Ziel-INR zwischen 1,5 und 2,0 fortgeführt werden.

**Cave**

Bei Verzicht auf eine begleitende parenterale Antikoagulation besteht die Gefahr einer cumarininduzierten Hautnekrose (► Kap. 46).

Diese entsteht durch Thrombosen in kleinsten Hautgefäßen, ausgelöst durch eine vorübergehende Hyperkoagulabilität, die sich durch die im Vergleich zu den prokoagulatorischen Faktoren kürzere Halbwertszeit von Protein C ergibt. Patienten mit einem bekannten (hereditären) Protein-C-Mangel sollten daher besonders vorsichtig (z. B. mit der erwarteten Erhaltungsdosis) aufdosiert werden, insbesondere sollte streng auf eine ausreichende überlappende Heparinisierung geachtet werden.

Meist wird zur Einleitung einer Therapie mit Cumarinderivaten eine Aufsättigung nach einem festen Schema angewendet (Tab. 51.9). Liegt der Ausgangs-Quick-Wert unter 70%, sollte zunächst die Ursache für den erniedrigten Quick-Wert überprüft und anschließend die Aufsättigungsdosierung reduziert werden.

Bei älteren Patienten, Patienten mit beeinträchtigter Nahrungsaufnahme oder Lebererkrankungen sowie bei Patienten mit einem erhöhten Blutungsrisiko sollte mit nicht mehr als 1–2 Tabletten täglich begonnen und bereits eine Kontrolle am dritten Tag durchgeführt werden.

**Tab. 51.9.** Aufsättigungsschema am Beispiel von Marcumar für einen normalgewichtigen, lebergesunden Erwachsenen

| Tag | Dosierung* | Zusätzliche Antikoagulation |
|---|---|---|
| 1 | 3 Tabletten | Parenteral |
| 2 | 2 Tabletten | Parenteral |
| 3 | 2 Tabletten | Parenteral |
| 4 | Dosis nach Quick-/INR-Wert | Absetzen bzw. Dosisreduktion der parenteralen Antikoagulation in Abhängigkeit vom Quick-/INR-Wert |

* 1 Tablette Marcumar = 3 mg Phenprocoumon

Auch für Patienten mit einer Cumarinsensitivität (assoziiert mit dem homozygoten VKORC1*2-Haplotyp) besteht die Gefahr einer Überantikoagulation in der Aufdosierungsphase. So wurden in den vergangenen Jahren einige Dosisalgorithmen entwickelt, die neben Lebensalter, Geschlecht und Körpergewicht auch die VKORC1- und CYP2C9-Genotypen implementieren (Anderson et al. 2007). Diese Dosisalgorithmen sind gegenwärtig noch nicht ausreichend validiert, jedoch ist zukünftig mit einem Transfer in die Klinik zu rechnen. Ein Dosiskalkulator als webbasierte Anwendung findet sich unter www.warfarindosing.org.

Aufgrund der kürzeren Halbwertszeit von Acenocoumarol und Warfarin erfolgt die Eindosierung mit der mutmaßlichen Erhaltungsdosis: ca. 1 Tablette, entspricht 5 mg Warfarin, im Mittel pro Tag. Bei Acenocoumarol (Sintrom®) gibt es 2 Wirkstärken (Tabletten zu 1 mg und 4 mg). Meistens entspricht die 4-mg-Stärke der üblichen Marcumar-Wirkung (½ Tablette Marcumar entspricht in etwa einer ½Tablette Sintrom® 4 mg).

In seltenen Fällen wird – bedingt durch Mutation(en) im Faktor-IX-Gen – während der Einleitungsphase eine auffallend verlängerte APTT gemessen mit klinisch zum Teil schwerer Blutungsneigung.

Am Ende der Einleitungsphase muss anhand der weiteren Quick-Wert- bzw. INR-Kontrollen die individuelle Erhaltungsdosis ermittelt werden. Diese kann jedoch aufgrund einer Reihe erworbener (z. B. Arzneimittelwechselwirkungen, Komorbidität, Vitamin-K-Aufnahme) und genetischer Faktoren (VKORC1-Genoytp) unterschiedlich stark variieren. Bis zum Erreichen einer stabilen Antikoagulation im gewünschten therapeutischen Bereich sind daher weitere Kontrollen notwendig. In der stabilen Phase sind jedoch aufgrund der oben genannten Faktoren Schwankungen möglich, die sich – bedingt durch die Halbwertszeit von 36–72 h bei Marcumar – erst nach 3–4 Tagen im Quick- bzw. INR-Wert zeigen.

Die jeweiligen Dosierungen werden in einen Patientenausweis (Marcumar-Ausweis) dokumentiert. Bei Patienten mit der Indikation für eine dauerhafte Antikoagulation sollte an die Möglichkeit einer Selbstkontrolle und -dosierung gedacht werden (▶ Kap. 47; Watzke et al. 2000). Im Rahmen einer neuen Vereinbarung besteht seit 2008 in Deutschland die Möglichkeit einer integrierten patientenorientierten Behandlung von Antikoagulationspatienten (Dauer >3 Monate) über einen telemedizinisch unterstützten »Thrombosedienst«. Dieser Dienst hat sich in den Niederlanden schon seit Jahren etabliert und zu einer nachweisbaren Verbesserung der Behandlungsqualität geführt.

Die Patienten sollten sich ausgewogen ernähren, eine spezielle Diät ist nicht zu empfehlen. Es sollten zwar Nahrungsmittel mit einem sehr hohen Vitamin-K-Gehalt (Kohlarten, Leber) nicht in größerer Menge verzehrt werden, ein Meiden dieser Lebensmittel ist aber genau so wenig sinnvoll. Es konnte sogar an warfarinisierten Patienten gezeigt werden, dass diejenigen mit instabilem INR-Verlauf weniger Vitamin K mit der Nahrung aufnahmen (unterhalb der WHO-Empfehlung) als Patienten mit stabilem INR (Sconce et al. 2005).

**! Bei instabil antikoagulierten Patienten kann daher eine supplementäre niedrig dosierte Vitamin-K-Gabe (bis 150 µg Vitamin K täglich) als individueller Therapieversuch zur Stabilisierung versucht werden (Oldenburg 2005; Oldenburg et al. 2008; Rombouts et al. 2007).**

Intramuskuläre Injektionen müssen bei mit Vitamin-K-Antagonisten behandelten Patienten vermieden werden. In der Regel können sie durch eine subkutane Verabreichung der Medikamente oder Impfstoffe ersetzt werden.

### 51.3.5 Nebenwirkungen

Zu den wichtigsten unerwünschten Arzneimittelwirkungen der Cumarine zählen Blutungskomplikationen (Levine et al. 2001). Das Blutungsrisiko ist abhängig vom INR-Wert und steigt oberhalb einer INR von 5 exponentiell an. Mit steigendem Alter findet sich ein höheres Blutungsrisiko (Linkins et al. 2003). Zudem nimmt das Risiko für hämorrhagische Ereignisse und auch die Inzidenz intrakranieller Blutungen in den ersten 3 Behandlungsmonaten zu. Pro 100 Behandlungsjahre muss mit einer Inzidenz von 7,6% Blutungskomplikationen gerechnet werden, davon sind 1,1% schwere und 0,25% tödliche Ereignisse (zerebrale Hämorrhagien; Palareti et al. 1996).

Relativ häufig sind Blutungen der ableitenden Harnwege (40%), gefolgt von Blutungen im Nasenrachenraum (18%) und gastrointestinalen Blutungen (18%). Die meisten Blutungen sind jedoch harmlos (oft Hämatomneigung), und eine Unterbrechung der Antikoagulation ist meist nicht erforderlich (Van Leeuwen et al. 2008). Bei mittelschweren Blutungen wird empfohlen, die Cumarintherapie zu pausieren und – in Abhängigkeit der aktuellen Intensität der oralen Antikoagulation – Vitamin K (1–10 mg p.o. oder i.v.) zu verabreichen. Im Falle von lebensbedrohlichen und/oder mit funktionellem Verlust einhergehenden schweren Blutungen müssen Faktorenkonzentrate (PPSB = Prothrombinkomplexkonzentrat, 25–50 E/kgKG oder FFP = »fresh frozen plasma«) und (ggf. wiederholt) Vitamin K verabreicht werden (▶ Kap. 50.4).

Selten kommt es zu nicht blutungsassoziierten Nebenwirkungen wie Transaminasenerhöhungen, Urtikaria oder Ekzeme. Auch hepatitisähnliche Veränderungen werden beobachtet. Haarausfall (Alopecia diffusa) als weniger schwerwiegende Nebenwirkung kann die Compliance be-




**Abb. 51.15.** Warfarinembryopathie. Junge mit Brachytelephalangie und abormalen Kalzifikationen der distalen Phalangen. (Mit freundlicher Genehmigung von Dr. J. L. Alessandri, Service de réanimation néonatale, CHD Félix-Guyon, Saint-Denis, La Réunion, France)

einträchtigen, meistens kann ein Wechsel auf einen anderen Cumarintyp helfen. Bei Patienten mit der Indikation zur Langzeitantikoagulation besteht die Gefahr einer zunehmenden Verminderung der Knochendichte (Osteoporose; Wawrzynska et al. 2003).

Bei Intoxikationen mit Cumarinen lässt sich die gastrointestinale Resorption durch Colestyramin (5-mal 4 g/Tag) oder Carbo medicinalis (30–100 g bei Erwachsenen und 15–30 g bei Kindern [0,5–1–2 g/kgKG]) hemmen. Nicht bereits vorher antikoagulierte Patienten können zum Erbrechen gebracht werden (Ipecacuanha-Sirup: Erwachsene 30 ml, Kinder [1–12 Jahre] 15 ml). Repetitive Gaben von Vitamin K (ggf. auch als intramuskuläre Injektion) und PPSB können in Einzelfällen (z. B. Ingestion von Rodentiziden) über Wochen notwendig sein. In solchen Fällen oder bei Verdacht auf artifiziell manipulierte Krankheiten empfiehlt sich die Bestimmung von Cumarinmetaboliten in entsprechenden Speziallaboren.

Da Cumarinderivate die Plazentaschranke passieren, besteht aufgrund des teratogenen Risikos eine Kontraindikation in der Schwangerschaft. Die orale Antikoagulation sollte daher nach Feststellung der Schwangerschaft beendet und eine Therapie mit Heparinen, die nicht plazentagängig sind, begonnen werden (vorzugsweise mit niedermolekularen Heparinen). Die Gefahr der gefürchteten Cumarinembryopathie (syn. Warfarinembryopathie, Abb. 51.15; mit gehäuft auftretenden Skelettanomalien, v. a. Mittelgesichts- und meist Nasenhypoplasien) besteht v. a. in der Phase der Organogenese zwischen der siebten bis neunten Schwangerschaftswoche, sodass im Einzelfall bei Patientinnen mit einem sehr hohen Thromboserisiko nach eingehender Beratung eine perikonzeptionelle Cumarintherapie bis zur sechsten Schwangerschaftswoche (bzw. zwischen 13. und 36. Schwangerschaftswoche) möglich ist (für detaillierte Stratefizierung siehe Gohlke-Bärwolf 2008; Schaefer et al. 2006).

Weitere relative Kontraindikationen stellen Erkrankungen mit einem erhöhten Blutungsrisiko dar (Beispiele siehe Übersicht). Es sollte jedoch immer eine individuelle Nutzen-Risiko-Abwägung erfolgen. Ein höheres Lebensalter ist keine generelle Begründung, eine Antikoagulation zu beenden oder darauf zu verzichten (Shireman et al. 2006).

**Relative Kontraindikationen für eine orale Antikoagulation**

- Krankheiten mit erhöhter Blutungsbereitschaft, z. B. hämorrhagische Diathese, Leberparenchymerkrankungen, manifeste Niereninsuffizienz, schwere Thrombozytopenie
- behandlungsrefraktäre arterielle Hypertonie (>200/105 mmHg)
- Erkrankungen, bei denen Verdacht auf eine Läsion des Gefäßsystems besteht, z. B.
  - Magen-Darm-Ulzera
  - Apoplexie
  - Traumen oder chirurgische Eingriffe (am ZNS oder am Auge)
  - Retinopathien mit Blutungsrisiko
  - fortgeschrittene Arteriosklerose
  - Hirnarterienaneurysma
  - disseziierendes Aortenaneurysma
  - floride Endokarditis
- fehlende und durch Fremdpersonen nicht ersetzbare Compliance
- fortgeschrittene Zerebralsklerose
- therapeutisch nicht beeinflussbare Epilepsie
- diagnostische oder therapeutische Maßnahmen mit der Möglichkeit unkontrollierbarer Blutungen wie
  - intramuskuläre Injektionen
  - Lumbalpunktionen
  - rückenmarksnahe Regionalanästhesien
  - Angiographien

## Literatur

Anderson JL, Horne BD, Stevens SM et al. (2007) Randomized trial of genotype-guided versus standard warfarin dosing in patients initiating oral anticoagulation. Circulation 116: 2563–2570

Ansell J, Hirsh J, Hylek E et al. (2008) Pharmacology and management of the vitamin K antagonists: American College of Chest Physiscians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). Chest 133 (6 Suppl): 160S–198S

Bayliss A, Faber P, Dunning J et al. (2007) What is the optimal level of anticoagulation in adult patients receiving warfarin following implantation of a mechanical prosthetic mitral valve? Interact Cardiovas Thorac Surg 6(3): 390–6

Diener HC et al. (2007) Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie und der Deutschen Schlaganfallgesellschaft zur Primär- und

Sekundärprävention des Schlaganfalls: Aktualisierung 2007. Akt Neurol 34: 8–12
Gohlke-Bärwolf C, Pildner von Steinburg S, Kaemmerer H et al. (2008) Antikoagulation und Gerinnungsstörungen in der Schwangerschaft. Der Internist 49: 779–787
Haemostasis and Thrombosis Task Force, British Committee for Standards in Haematology (2001) Investigation and management of heritable thrombophilia. Br J Haematol 114(3): 512–28
Fuster V, Rydén LE, Cannom DS et al. (2006) ACC/AHA/ESC 2006 guidelines for the management of patients with atrial fibrillation. Circulation 114(7): e257–354
Kemkes-Matthes B, Matzdorff A, Heidt M et al. (2002) Initialphase der oralen Antikoagulanzientherapie: Vergleich verschiedener Dosierungen von Warfarin und Phenprocoumon. Hämostaseologie 22: 87–91
Levine M, Gary R, Landefeld S et al. (2001) Hemorrhagic complications of anticoagulant treatment. Chest 119: 108–121
Linkins LA, Choi PT, Douketis JD (2003) Clinical impact of bleeding in patients taking oral anticoagulant therapy for venous thromboembolism: a meta-analysis. Ann Intern Med 139: 893–900
Oldenburg J, Seidel H, Pötzsch B (2008) Neue Einsichten in die orale Antikoagulationstherapie mit Cumarinen. Hämostaseologie 28(1): 44–50
Oldenburg J (2005) Vitamin K intake and stability of oral anticoagulant treatment. Thromb Haemost 93: 799-800
Palareti G, Leali N, Coccheri S et al. (1996) Bleeding complications of oral anticoagulant treatment: an inception-cohort, prospective collaborative study (ISCOAT). Italian Study on Complications of Oral Anticoagulant Therapy. Lancet 348: 432–438
Rombouts EK, Rosendaal FR, van der Meer FJM (2007) Daily vitamin K supplementation improves anticoagulant stability. J Thromb Haemost 5: 2043–2048
Rost S S, Fregin A, Ivaskevicius V et al. (2004) Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2. Nature 427: 537–541
Schaefer C et al. (2006) Vitamin K antagonists and pregnancy outcome. A multi-centre prospective study. Thromb Haemost. 96(6): 949–57
Sconce E, Khan T, Mason J et al. (2005) Patients with unstable control have a poorer dietary intake of vitamin K compared to patients with stable control of anticoagulation. Thromb Haemost 93: 872–875
Shireman TI, Mahnken JD, Howard PA et al. (2006) Development of contemporary bleeding risk model for elderly warfarin recipients. Chest 130(5): 1390–6
Van Leeuwen Y, Rosendaal FR, Cannegieter SC (2008) Prediction of hemorrhagic and thrombotic events in patients with mechanical heart valve prostheses treated with oral anticoagulants. J Thromb Haemost 6(3): 451–6
Watzke HH, Forberg E, Scolba G et al. (2000) A prospective controlled trial comparing weekly self-testing and self-dosing with the standard management of patients on stable oral anticoagulation. Thromb Haemost 83: 661–5
Wawrzyńska L, Tomkowski WZ, Przedlacki J et al. (2003) Changes in bone density during long-term administration of low-molecular-weight heparins or acenocoumarol for secondary prophylaxis of venous thromboembolism. Pathophysiol Haemost Thromb 33: 64–7

# 47 Gerinnungsselbstmanagement der oralen Antikoagulation

*A. Bernardo*

## Einleitung

Aus vielen Untersuchungen geht eindeutig hervor, dass sowohl die Effizienz als auch die Komplikationen einer Langzeitantikoagulation in erster Linie von der Güte und Engmaschigkeit der Gerinnungskontrollen abhängig sind. Durch das Selbstmanagement der Antikoagulation wird der Patient in die therapeutische Verantwortung eingebunden.

Voraussetzung ist, dass der Patient aufgrund seiner intellektuellen und manuellen Fähigkeiten in der Lage ist, mit einem Point-of-Care-Gerät die INR-Werte zu bestimmen und therapeutische Konsequenzen abzuleiten. Die Qualität des Selbstmanagements ist in klinischen Studien belegt.

## 47.1 Einleitung

Die orale Antikoagulation hat im Rahmen der Primär- und Sekundärprophylaxe von Thromboembolien einen festen Stellenwert und ist eine der wichtigsten therapeutischen Maßnahmen. Weltweit nehmen etwa 7 Millionen Menschen aufgrund unterschiedlicher Erkrankungen ein Antikoagulans ein. Dazu gehören Patienten mit Kunstklappenersatz, permanentem Vorhofflimmern, Herzinsuffizienz mit schwer reduzierter linksventrikulärer Pumpfunktion, primärer pulmonaler Hypertonie, angeborenen und erworbenen Thrombophilien, rezidivierenden Beinvenenthrombosen sowie thromboembolischen Ereignissen.

Aus vielen Untersuchungen geht eindeutig hervor, dass sowohl die Effizienz als auch die Komplikationen einer Langzeitantikoagulation in erster Linie von der Güte und Engmaschigkeit der Gerinnungskontrollen abhängig sind [1, 2, 8]. Die Therapie mit oralen Antikoagulanzien erfordert eine sorgfältige und regelmäßige Überwachung der INR (»international normalized ratio«), um mögliche Komplikationen wie Blutungen und Thromboembolien zu vermeiden [13]. Eine optimale Antikoagulation verbessert bei Patienten mit oraler Antikoagulation Prognose, Lebensqualität und Komplikationsrate.

## 47.2 Point-of-Care-Test

Für Patienten, die mit oralen Antikoagulanzien behandelt werden, besteht seit 1986 in Deutschland die Möglichkeit, ihre gerinnungshemmende Therapie selbst zu kontrollieren und die notwendige Dosiskorrektur des Antikoagulans selbstständig vorzunehmen. Dies war mit dem damals verfügbaren Gerinnungsmonitor sehr zeitaufwendig und komplex. Heute stehen eine Reihe von hämostaseologischen Point-of-Care-(POC-)Instrumenten für den Einsatz in der Klinik und für Patienten zur Verfügung (Tab. 47.1).

Hierbei handelt es sich um kleine, benutzerfreundliche und handliche Instrumente zur Erfassung der plasma-

**Tab. 47.1.** Point-of-Care-Instrumente

| Parameter | CoaguChek® XS (Roche Diagnostics GmbH) | INRatio® (HemoSense Inc.) |
|---|---|---|
| Messprinzip | Elektrochemisch | Elektrochemisch |
| Thromboplastin | Humanrekombinantes Thromboplastin, ISI 1.0 | |
| Teststreifen | Bei Raumtemperatur lagerbar | Bei Raumtemperatur lagerbar |
| Probenmatrial | Frisches Kapillarblut, venöses Blut | Frisches Kapillarblut |
| Blutmenge | Ca. 10 µl | Ca. 15 µl |
| Ergebnisse | INR, %-Quick, Sekunden | INR, %-Quick, Prothrombinzeit (PT), Qualitätskontrolle (QC) |
| Speicherkapazität | 100 Messwerte mit Datum und Uhrzeit | 60 Messwerte mit Datum und Uhrzeit |
| Kalibrierung | Chargenspezifischer Code-Chip | Keine |
| Qualitätskontrolle | On-Board-Kontrolle | On-Board-Kontrolle |
| Spannungsversorgung | AA-Standardbatterien | AA-Standardbatterien oder Netzadapter |

tischen Gerinnung. Nach Einschalten des Geräts kann der Teststreifen in das Messgerät eingeführt werden. Mit einer Stechhilfe wird seitlich aus der Fingerbeere ein Blutstropfen gewonnen und auf den Teststreifen aufgetragen. Mit Kapillarkraft wird das Blut automatisch durch den Kanal in die Messkammer gesogen. Die Blutgerinnung beginnt. Es folgt die Qualitätskontrolle (»on-board control«). Danach ist auf dem Gerätedisplay das Ergebnis in 1–2 min ablesbar.

Vorteil der POC-Geräte ist die schnelle Verfügbarkeit der Gerinnungsergebnisse mit der Möglichkeit der zielgerichteten therapeutischen Intervention.

## 47.3 Gerinnungsselbstmanagement

Unter Gerinnungsselbstmanagement versteht man die aktive Einbindung des Patienten in seine Behandlung.

**Definition**

Hier übernimmt der Patient nach entsprechender Schulung sowohl die Überwachung der Intensität der gerinnungshemmenden Therapie als auch die Dosisanpassung des Antikoagulans unter Berücksichtigung des Gerinnungsmesswerts (vorzugsweise INR).

In Deutschland führen zurzeit etwa 160.000 langzeitantikoagulierte Patienten das Gerinnungsselbstmanagement aus [18].

Im Gegensatz zum Gerinnungsselbstmanagement findet man, überwiegend in englischsprachigen Ländern, die Gerinnungsselbstkontrolle. Hier bestimmt der Patient nach Einweisung in die Handhabung des Gerinnungsmonitors seinen Gerinnungsparameter (INR), während der Arzt die Dosis des Antikoagulans festlegt. Weltweit findet man 30.000 antikoagulierte Patienten mit der Gerinnungsselbstkontrolle.

Unabdingbare Voraussetzung für das Gerinnungsselbstmanagement ist eine standardisierte und strukturierte Schulung, in der die theoretischen und praktischen Kenntnisse in der Antikoagulation, ihrer Überwachung und Handhabung des Gerinnungsmonitors patientengerecht vermittelt werden.

### 47.3.1 Patientenschulung

Die Patientenschulung wird durch ein qualifiziertes Schulungsteam unter Aufsicht eines Arztes abgehalten. Regelmäßige Schulungen durch das Team sind notwendig, um ausreichend Erfahrung mit der patientengerechten Vermittlung der Schulungsinhalte und mit dem Gerinnungsmonitor zu gewährleisten. Die Schulung erfolgt an mindestens 4 getrennten Tagen. Der Schulungskurs umfasst 4 Unterrichtseinheiten von jeweils 90 min Dauer. Die optimale Gruppengröße liegt bei 3–6 Patienten. Praxen und Kliniken, die die Patientenschulung im Gerinnungsselbstmanagement anbieten wollen, sollten an einem anderthalbtägigen Train-the-Trainer-Seminar teilgenommen haben [5, 10].

Interaktiv werden folgende Schulungsinhalte im Gerinnungsselbstmanagement abgedeckt:

- Grundsätzliches zur Blutgerinnung,
- unterschiedliche Medikamente mit gerinnungshemmender Wirkung, ihre Wirkweise und mögliche Nebenwirkungen,
- Interaktionen mit zusätzlichen Medikamenten,
- prospektive Dosisfindung des oralen Antikoagulans anhand von Übungsbeispielen,
- Erkennen und Korrektur von Über- und Unterdosierung des Antikoagulans,
- Erkennen von und richtiges Handeln bei Komplikationen,
- Ernährung,
- Endokarditisprophylaxe besonders nach Herzklappenersatz und Herzklappenrekonstruktion,
- überlappende Heparintherapie.

Die theoretische Schulung wird durch einen praktischen Teil ergänzt, in dem der sachgerechte Umgang mit dem Gerinnungsmonitor zuverlässig eingeübt wird.

Für die Schulung steht ein evaluiertes Schulungsprogramm (Schulungs- und Behandlungsprogramm für Patienten mit oraler Gerinnungshemmung, SPOG) zu Verfügung [17]. Die Unterrichtsmaterialien bestehen aus einem Curriculum mit Trainerleitfaden, entsprechend der Unterrichtseinheiten farblich getrennten Unterrichtskarten, 20 Postern und einem begleitenden Schulungsbuch für die Patienten (siehe Übersicht; [17, 19]).

Eine wesentliche Voraussetzung für das Gerinnungsselbstmanagement ist der interessierte und motivierte Patient, der über die Fähigkeit verfügt, Verständnis für die Zusammenhänge der Antikoagulation zu erwerben, und eine ausreichende manuelle Geschicklichkeit und Sehkraft besitzt. Entscheidend ist die Bereitschaft, auf der neu erworbenen Grundlage von Wissen die Verantwortung in der Behandlung mit Antikoagulanzien zu übernehmen (»empowerment«). Das Erlernen des Gerinnungsselbstmanagements ist prinzipiell an kein Lebensalter gebunden [19].

Sollten Patienten nicht in der Lage sein, das Gerinnungsselbstmanagement durchzuführen, so kann diese auch von Angehörigen übernommen werden. Vor allem in der Pädiatrie werden Eltern antikoagulierter Kinder in das Gerinnungsselbstmanagement unterschiedlich stark eingebunden, bis die Kinder in der Lage sind, selbstständig die

**Inhalte des SPOG-Curriculums**

**1. Unterrichtseinheit**

- Allgemeines zur Blutgerinnung
  - Die Behandlung mit Gerinnungshemmern
  - Wie gerinnt das Blut?
  - Wie funktioniert Blutgerinnung?
  - Wie kann man Gerinnbarkeit messen?
- INR-Selbstmessung
  - Prinzip der INR-Messung
  - Das Gerät
  - Die Selbstmessung des INR-Werts

**2. Unterrichtseinheit**

- Blutgerinnung
  - Was passiert bei der Blutgerinnung?
  - Wie wird die Blutgerinnung gehemmt?
  - Wann ist eine Hemmung der Blutgerinnung notwendig?
  - Unterschiedliche therapeutische Bereiche
  - Der Gerinnungsausweis

**3. Unterrichtseinheit**

- Unterschiedliche Medikamente mit gerinnungshemmender Wirkung
  - Wie wirken Cumarine im Körper?
  - Die Dauer der Gerinnungshemmung
  - Welche Nebenwirkungen können auftreten?
  - Die Dosierung des Gerinnungshemmers
  - Vorgehensweise bei zu niedrigen und zu hohen INR-Werten
  - Wechselwirkung mit anderen Medikamenten
  - Dosierungsbeispiele im und außerhalb des therapeutischen Bereichs

**4. Unterrichtseinheit**

- Ernährung und besondere Situationen
- Endokarditisprophylaxe
- Vorgehen bei operativen Eingriffen
- Reisen und Urlaub

INR-Bestimmung und Dosisanpassung des Antikoagulans zu übernehmen.

Hauptzielgruppe für das Gerinnungsselbstmanagement sind zurzeit langzeitantikoagulierte Patienten aller Indikationen, insbesondere nach Kunstklappenersatz, bei permanentem Vorhofflimmern, angeborenen oder erworbenen Thrombophilien, rezidivierenden Bein- und Beckenvenenthrombosen, Lungenembolien, primärer pulmonaler Hypertonie sowie Herzinsuffizienz mit schwer reduzierter linksventrikulärer Funktion.

In besonders gut begründeten Fällen können auch Patienten mit (passagerer) Kurzzeitantikoagulation im Gerinnungsselbstmanagement oder in der Gerinnungsselbstkontrolle geschult werden. Über die Effektivität des Gerinnungsselbstmanagements bei Patienten, die nur vorübergehend mit einem Antikoagulans behandelt werden, gibt es zurzeit keine ausreichenden wissenschaftlichen Studien bzw. Nachuntersuchungen.

### 47.3.2 Kostenübernahme

Die gesetzlichen und privaten Krankenkassen übernehmen in der Regel ganz oder teilweise die Kosten für eine ambulant durchgeführte strukturierte Patientenschulung nach einem evaluierten Schulungsprogramm, da sie die nachweisbare verbesserte Einstellung im therapeutischen Bereich und die Reduktion der Komplikationsrate sicherstellt. Stationäre Schulungen sind in der Regel über den Pflegesatz abgegolten.

Im Zuge der Einführung des Disease-Management-Programms (DMP) Koronare Herzkrankheit erfolgt die Abrechnung der Patientenschulung auf Grundlage der entsprechenden regionalen Vereinbarungen zwischen Krankenkassen und Kassenärztlichen Vereinigungen. Voraussetzung für die Abrechnung der Schulungsprogramme ist immer die Teilnahme des Schulungsteams an den entsprechenden Fortbildungseminaren bzw. an Train-the-Trainer-Seminaren.

Nach der Fortschreibung des Hilfsmittelverzeichnisses Produktgruppe 21 im Bundesanzeiger werden die Kosten für Gerinnungsmonitor und Verbrauchsmaterialien, wie z. B. Teststreifen, dann übernommen, wenn folgende Voraussetzungen erfüllt sind:

Bei der Verordnung der Gerinnungsmessgeräte muss neben der Indikation zur Langzeitantikoagulation eine medizinische Begründung angegeben werden, die die Notwendigkeit des Gerinnungsselbstmanagements unterstreicht. Eine medizinisch begründete Leistungsverpflichtung der Krankenkasse zur selbstständigen Überwachung der Intensität der Antikoagulation mit sofortiger Dosisanpassung des Gerinnungshemmers besteht z. B. bei:

- Komplikationen unter konventioneller Betreuung,
- schwankenden Gerinnungswerten,
- »scharfer« Antikoagulation bzw. hohem INR-Zielbereich, z. B. nach thromboembolischen Komplikationen,
- Schwierigkeiten, regelmäßig die Praxis aufzusuchen (z. B. fehlende Infrastruktur, Pflegebedürftigkeit, Schichtarbeit, wechselnde berufliche Einsatzorte, Auslandstätigkeit),
- schlechten Venenverhältnissen,
- antikoagulierten Kindern.

Ausgenommen davon sind Patienten mit Kunstklappenersatz, die in den ersten 3 Monaten nach Operation im Gerin-

nungsselbstmanagement geschult wurden. Außerdem benötigt der Patient eine Bescheinigung über die erfolgreiche Teilnahme an einer Schulung und eine ärztliche Verordnung für das Gerinnungsmessgerät [6].

In der Behandlung mit Antikoagulanzien gibt es eine ganze Reihe an Erschwernissen, die eine gute und sichere Qualität einer solchen Therapie erheblich beeinträchtigen. Dazu gehört u. a. die komplexe Pharmakokinetik der Antikoagulanzien, die Notwendigkeit engmaschigerer INR-Kontrollen und Dosisanpassungen, eng gefasste therapeutische Zielbereiche, Blutungskomplikationen, Non-Compliance, Interaktionen mit anderen Medikamenten und steigende Kosten in der Überwachung und Therapie.

## 47.4 Therapeutische Zielbereiche

Der therapeutische Zielbereich liegt bei unterschiedlichen Erkrankungen zwischen 2,0 und 4,5 INR. Eine INR unter 2,0 führt zu einem erhöhten thromboembolischen Risiko, eine INR über 4,5 erhöht das Risiko für Blutungen [9, 14, 15]. Um die mit einer nicht optimalen Antikoagulation verbundenen thromboembolischen Komplikationen und Blutungen zu vermeiden, ist die Qualität der Gerinnungsüberwachung mit adäquater Dosisanpassung deutlich zu verbessern.

In unterschiedlichen Studien konnte gezeigt werden, dass die Einhaltung des therapeutischen Zielbereichs in 85% gewährleistet wurde, wenn wöchentlich die Gerinnungsparameter überprüft wurden, dagegen lediglich in 50% bei monatlichen Kontrollintervallen [4, 11].

**! Durch eine sehr gut durchgeführte orale Antikoagulation könnte mehr als die Hälfte der Schlaganfälle bedingt durch Vorhofflimmern oder durch Kunstklappenersatz vermieden werden mit einem geringeren Risiko an schweren Blutungskomplikationen [7].**

## 47.5 Evidenz

Zahlreiche Studien zeigen, dass durch das Gerinnungsselbstmanagement oder die Gerinnungsselbstkontrolle im Vergleich zur konventionellen Therapieführung eine erhebliche qualitative Verbesserung der Therapie mit hochsignifikanter Reduktion der thromboembolischen Ereignisse und einer geringeren Reduktion der schwerwiegenden Blutungskomplikationen erreicht werden kann [12].

Eine Metaanalyse von 14 randomisierten Studien mit 3.049 Patienten und einer Dauer zwischen 2 und 24 Monaten ergab folgendes Ergebnis:

Patienten mit Gerinnungsselbstkontrolle zeigen eine signifikante Reduktion der thromboembolischen Ereignisse von 4,6% auf 2,2% (Odds-Ratio 0,45; 95% Konfidenzintervall 0,30–0,68), der »all-cause«-Mortalität (OR 0,61; CI 0,38–0,98) und schwerer Blutungskomplikationen (OR 0,65; CI 0,42–0,99) im Vergleich zu den konventionell betreuten Patienten. Studien mit Gerinnungsselbstmanagement spiegeln eine signifikante Reduktion in den thromboembolischen Komplikationen (OR 0,27; CI 0,12–0,59) und der Mortalität (OR 0,37; Ci 0,16–0,85) im Vergleich zu Patienten mit Gerinnungsselbstkontrolle wider.

Zwischen beiden Gruppen (Gerinnungsselbstkontrolle und Gerinnungsselbstmanagement) konnte keine nennenswerte Reduktion der schweren Blutungskomplikationen gefunden werden. 11 Studien zeigen einen höheren Anteil der mittleren Gerinnungsmesswerte im INR-Zielbereich. Gerinnungsselbstmanagement verbessert somit die Güte der oralen Antikoagulationstherapie. Patienten mit Gerinnungsselbstmanagement haben weniger thromboembolische Ereignisse und eine geringere Mortalität als Patienten mit Gerinnungsselbstkontrolle [12].

Zur Beurteilung der Kosteneffektivität für das Gerinnungsselbstmanagement und für die Gerinnungsselbstkontrolle bedarf es weitere Studien. Durch das Gerinnungsselbstmanagement ist ein Einsparpotenzial gegeben, obwohl die Kosten zunächst höher als beim Routinemanagement sind, bedingt durch die Anschaffung des Gerinnungsmonitors und die Schulung des Patienten. Ein eindeutiger Kostenvorteil zu Gunsten des Gerinnungsselbstmanagements ergibt sich dann unter Berücksichtigung der zu erwartenden Komplikationen.

Das Einsparpotenzial liegt bei 300 € pro Patient und Jahr beim Gerinnungsselbstmanagement. Der tatsächliche Kostenvorteil dürfte allerdings weitaus höher liegen, da bei der Kalkulation Kosten, die z. B. durch Langzeitbehinderung, Pflege, Arbeitsausfall, Erwerbsunfähigkeit, nicht berücksichtigt wurden [16, 20].

Eine amerikanische Studie zeigte, dass die Gerinnungsselbstkontrolle trotz Anschaffung des Gerinnungsmonitors und der Teststreifen halb so teuer ist im Vergleich zu den Kosten, die in einem Labor eines Krankenhauses anfallen [3].

Eine Langzeitantikoagulation erfordert eine besonders sorgfältige Führung und Betreuung des Patienten. Unerlässlich für eine erfolgreiche Langzeitantikoagulation ist die Mitarbeit des Patienten. Diese kann nur gewonnen werden, wenn der Patient über Notwendigkeit, Einzelheiten der Durchführung, mögliche Interaktionen, Chancen und Risiken der Antikoagulation eingehend aufgeklärt ist. Eine weitere Möglichkeit, die Antikoagulation in der Ausführung zu verbessern ist, den Patienten verantwortungsvoll in das Managment der Antikoagulation mit einzubeziehen, entweder in das Gerinnungsselbstmanagement oder in die Gerinnungsselbstkontrolle.

Mit vertretbarem Aufwand können sehr viele Patienten im Gerinnungsselbstmanagement bzw. in der Gerinnungs-

selbstkontrolle mit einem einfach zu bedienenden Gerinnungsmonitor so geschult werden, dass sie fähig sind, das Management bzw. die Selbstkontrolle langfristig zuverlässig und optimal durchzuführen. Eine sorgfältige, wöchentliche Gerinnungsselbstkontrolle führt gegenüber dem klassischen Überwachungsverfahren (Hausarzt, Antikoagulationsambulanzen) zu einer erheblich besseren Langzeitantikoagulation, da aktuelle Veränderungen, die die Wirksamkeit des Antikoagulans beeinflussen, rascher erkannt und bei der Dosierung des Antikoagulans berücksichtigt werden können.

Das Gerinnungsselbstmanagement bezieht den Patienten aktiv in seine Behandlung ein und schärft sein Bewusstsein für die Notwendigkeit einer optimalen lebenslangen Antikoagulation. Dadurch lässt sich v. a. das Thromboserisiko signifikant senken, aber auch das Blutungsrisiko, sodass nicht nur die Lebensqualität, sondern auch die Prognose bei langzeitantikoagulierten Patienten durch das Selbstmanagement oder die Selbstkontrolle erheblich verbessert wird.

## Literatur


[1] Ansell JE (1998) Anticoagulation management as a risk factor for adverse events: Grounds for improvement. J Throm Thrombolysis 5(suppl): S13–S18

[2] Ansell JE (2000) The quality of anticoagulation management. Arch Intern Med 160: 967–973

[3] Anderson DR, Harrison L, Hirsh J (1993) Evaluation of a portable ptothrombin time monitor for home use by patients who require long-term anticoagulation therapy. Arch Intern Med 153: 1441–7

[4] Bernardo A, Halhuber C, Horstkotte D (1992) Home prothrombin estimation. In: Butchart EG, Bodnar E (eds) Thrombosis, embolism, and bleeding. London: ICR Publishers, p 25–30

[5] Bernardo A, Völler H (2001) Leitlinien »Gerinnungsselbstmanagement«. Dtsch Med Wschr 126: 346–351

[6] Bundesministerium der Justiz (Hrsg) (1996) Bekanntmachung des Hilfsmittelverzeichnisses. Bundesanzeiger 28 (79a)

[7] Buckingham TA, Hatala R (2002) Anticoagulants for atrial firbrillation: why is the treatment rate so low? Clin C Ardiol 25: 447–54

[8] Bussey HI, Respond RM, Quandt CM et al. (1989) The safety and effectivness of long-term warfarin therapiy in an anticoagulation clinic. Pharmacother 9: 214–219

[9] Cannegieter SC, Rosendaal FR, Wintzen AR et al. (1995) Optimal oral anticoagulant therapy in patients with mechanical heart valves. N Engl J Med 333: 11–17

[10] Fitzmaurice DA, Machin SJ, on behalf of the British Society of Haematology Task Force for Haemostasis and Thrombosis (2001) Recommendations for patients undertaking self management of oral anticoagulation. BMJ 323: 985–989

[11] Gottlieb LK, Salem-Chatz S (1994) Anticoagulation in atrial fibrillation: does efficacy in clinical trials translate into effectiveness in practice? Arch Intern Med 154: 1945–53

[12] Heneghan C, Alonso-Coello P, Garcia-Alamino JM, Perera R, Meats E (2006) Self-monitoring of oral anticoagulation: a systemic review and meta-analysis. Lancet 367: 404–11

[13] Horstkotte D, Piper C, Wiemer M (1998) Optimal frequency of patient monitoring and intensity of oral anticoagulation therapiy in valvular heart disease. J Throm Thrombolysis 5: S19–S24

[14] Hylek EM, Skates SJ, Sheehan MA et al. (1996) An analysis of the lowest effective intensity of prophylatic anticoagulation for patients with non theumatic atrial fibrillation. N Engl J Med 335: 540–6

[15] Kearon C, Ginsberg J, Kovacs MJ et al. (2000) Comparison of low-intensity warfarin therapy with conventional-intensity warfarin therapyfor long-term prevention of recurrent venous thromboembolism. N Engl J Med 349: 631–9

[16] Lafata J, KaatzS, Martin S, Ward R (2000) Anticoagulation Clinics and Patient-Selftesting for PAtients on Chronic Warfarin Therapy: A Cost-Effectiveness Analysis. J Thromb Thrombolysis 9(suppl 1): 13–19

[17] Sawicki PT (1999) A structured teaching and self-management program for patients receiving oral anticoagulation. A randomized controlled trial. JAMA 281: 145–50

[18] Sawicki PT, Gläser B, Kleespies C, Stubbe J, Schmitz N, Kaiser T, Didjurgeit U (2003) Self-management of oral anticoagulation: long-term results. J Intern Med 254: 515–6

[19] Siebenhofer A, Rakovac I, Kleespies C, Piso B, Didjurgeit U (2007) Self-management of oral anticoagulation in the elderly: Rationale, design, baselines and oral anticoagulation control after one year of follow-up. A randomized controlled trial. Thrombo Haemost 97: 408–16

[20] Taborski U, Bernardo A, Wittstamm F-J (1999) Cost-effectiveness of self-managed anticoagulant therapy in Germany. Sem Thromb Hemostas 25: 103–8

# 48 Thrombosen und Gefäßverschlüsse trotz antithrombotischer Therapie

*T. Geisler, M. Gawaz*

## Einleitung

Kommt es nach gefäßrekonstruktiver Therapie trotz standardisierter thrombozytenfunktionshemmender Medikation zu einer Thrombosierung der betroffenen Gefäßregion, besteht der Verdacht einer Acetylsalicylsäure- oder Clopidogrelresistenz. Die ASS- oder Clopidogrelresistenz kann klinisch oder laboranalytisch definiert werden. Therapeutische Optionen umfassen die Dosissteigerung der Thrombozytenfunktionshemmer oder den Einsatz weiterer antiaggregatorischer Substanzen wie Dipyridamol. Ein evaluiertes Therapiekonzept liegt nicht vor.

## 48.1 Einleitung

Die duale antithrombozytäre Therapie zur Sekundärprophylaxe kardiovaskulärer Ereignisse bei Patienten mit symptomatischer koronarer Herzerkankung und anderen Gefäßerkrankungen, die eine interventionelle Therapie mittels Stentimplantation erfordern, besteht aus Acetylsalicylsäure und Clopidogrel. Ihr Nutzen konnte bisher durch zahlreiche Studien belegt werden [1, 2]. Dennoch entwickelt eine wesentliche Anzahl von Patienten artherothrombotische Komplikationen, obwohl eine konventionelle antithrombozytäre Behandlung erfolgte.

Erst kürzlich ist das Phänomen der Resistenz gegenüber der antithrombozytären Therapie in der Literatur beschrieben worden, und es mehren sich die Hinweise, dass eine hohe interindividuelle Variabilität des Ansprechens besteht. Diese Variabilität ist mit der klinischen Prognose bei kardiovaskulären Risikopatienten assoziiert. Dabei ist in der Literatur der Begriff der Resistenz unterschiedlich definiert worden. Er beschreibt sowohl die ineffektive Thrombozytenhemmung als auch das Auftreten ischämischer Ereignisse unter der Therapie mit antithrombozytären Substanzen.

Eine Resistenz gegenüber der antithrombozytären Therapie ist bisher mit unterschiedlicher Prävalenz beschrieben worden, was vorwiegend durch die unterschiedliche Methodik und variable Definitionen begründet ist. Um zu berücksichtigen, dass die antithrombozytäre Wirkung durch unterschiedliche Faktoren beeinflusst wird und einen transienten und reversiblen Zustand widerspiegelt, ist in der jüngeren Literatur der absolute Begriff der Resistenz zunehmend verlassen und vermehrt ein inadäquates Ansprechen (»low response«) auf die antithrombozytäre Therapie beschrieben worden.

## 48.2 Suboptimales Ansprechen auf ASS

### 48.2.1 Prävalenz und Einflussfaktoren

In der Literatur finden sich Prävalenzen der ASS-Resistenz zwischen 5 und 30% [3, 4]. Diese Variabilität der Werte lässt sich zum Teil durch die verschiedenen Labormethoden erklären, mit denen ASS-abhängige Thrombozyteninhibierung charakterisiert werden (optische Aggregationsmessung, »platelet function analyser« (PFA), Urinthromboxanspiegel), sowie durch unterschiedliche Grenzwerte, die für die Definition der ASS-Resistenz herangezogen wurden (Tab. 48.1).

Weiterhin ist die ASS-Resistenz ein multifaktorielles Phänomen, da das Ansprechen auf ASS durch verschiedenste Mechanismen beeinflusst werden kann. So sind Medikamenteninteraktionen mit Ibuprofen durch sterische Wechselwirkung an der COX-1-Bindungsstelle beschrieben worden [5]. Zelluläre Faktoren umfassen die erhöhte Expression von COX-2-mRNA, eine inadäquate Inhibierung von COX-1, erhöhte Norepinephrinkonzentrationen, erythrozyteninduzierte Thrombozytenaktivierung sowie die Bildung von 8-Isoprostaglandin 2α.

Genetische Polymorphismen sind ebenfalls diskutiert worden (Abb. 48.1). Weiterhin ist der Einfluss klinischer Faktoren auf das Ansprechen auf ASS beschrieben worden. So konnte in einigen Arbeiten eine erhöhte Prävalenz der ASS-Resistenz für kardiovaskuläre Risikopatienten, z. B. Typ-II-Diabetiker, beobachtet werden [6]. In direkten Vergleichen zeigten Patienten mit ST-Hebungsmyokardinfarkt (STEMI) eine erhöhte Prävalenz einer ASS-Resistenz verglichen mit Patienten ohne Nachweis einer koronaren Herzerkrankung (26 vs 9,7%; [7] ).

### 48.2.2 Klinische Bedeutung

In einer Studie untersuchten Gum und Mitarbeiter 326 Patienten mit koronarer Herzkrankheit, die eine Dosis von 325 mg ASS täglich erhielten, und fanden durch optische Aggregationsmessung in diesem Kollektiv eine Prävalenz von 5,2% ASS-resistenten Patienten [8].

**Tab. 48.1.** Prävalenz der ASS-Resistenz in der Literatur

| Patientenkollektive | ASS (mg/Tag) | Methode | ASS-Resistenz (%) | Referenz |
|---|---|---|---|---|
| ACVB (n=40) | 325 | Blutungszeit | 43 | Buchanan 1995 [31] |
| AMI (n=143) | 75–160 | Agg | 1,4–9,8 | Hurlen 1998 [32] |
| Gesunde Testpersonen (n=31) | 325 | Vollblut-Agg | 10 | Pappas 1994 [33] |
| PAVK (n=100) | 100 | Vollblut-Agg | 60 | Müller 1997 [34] |
| KHK (325) | 325 | Agg | 5,5 | Gum 2001 [35] |
| | | PFA-100 | 9,5 | |
| Schlaganfall (n=180) | 500 | Agg | 36 | Grotemeyer 1991 [36] |
| Schlaganfall (n=53) | 100 | PFA-100 | 34 | Grundmann 2003 [37] |
| Diabetes (n=158) | 100 | PFA-100 | 22 | Fateh 2003 [38] |

*ACVB* aortokoronarer Venenbypass; *Agg* Aggregometrie; *AMI* akuter Myokardinfarkt; KHK koronare Herzkrankheit; *PAVK* periphere arterielle Verschlusskrankheit; PFA-100 «platelet function analyzer"

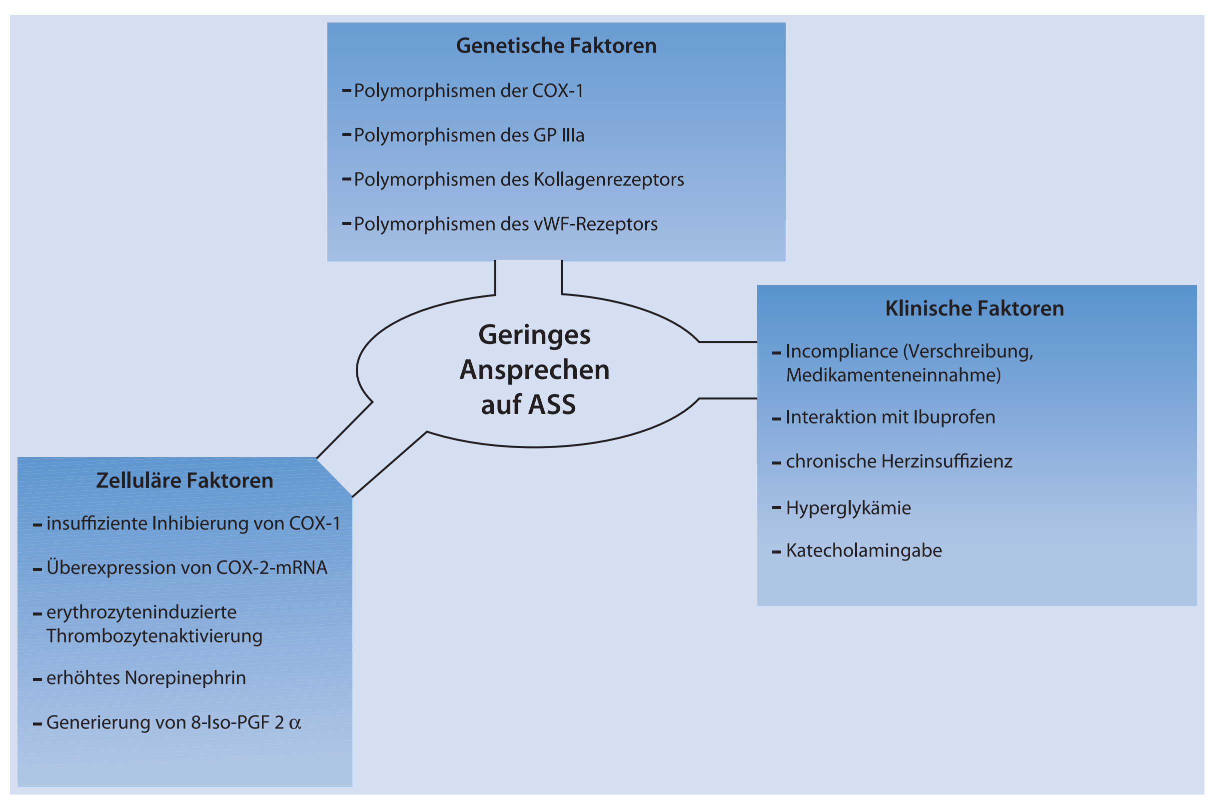



**Abb. 48.1.** Einflussfaktoren für das Ansprechen auf ASS

**Die Inzidenz kombinierter Endpunkte (Tod, nicht tödlicher Myokardinfarkt, zerebrale ischämische Ereignisse) über eine mittlere Nachverfolgungszeit von 679 Tagen war bei ASS-resistenten Patienten signifikant erhöht (24% vs 10%, Hazard-Ratio 3.1).**

In einer weiteren Studie zeigte sich ein Zusammenhang zwischen dem Ausmaß einer myokardialen Nekrose nach perkutaner koronarer Intervention und dem Vorliegen einer ASS-Resistenz [9].



## 48.3 Suboptimales Ansprechen auf Clopidogrel

### 48.3.1 Prävalenz und Einflussfaktoren

Clopidogrel gehört zu der Substanzklasse der Thienopyridine. Es hemmt kompetitiv und irreversibel den $P2Y_{12}$ ADP-Rezeptor auf Thrombozyten. Clopidogrel ist ein Pro-Drug, das durch hepatische Metabolisierung hauptsächlich durch Cytochrom P450 (CYP) 3A4/3A5 und CYP 2C19 in seinen aktiven Metaboliten umgewandelt werden muss. Das therapeutische Regime besteht aus einer Aufsättigungsdosis von 300–600 mg vor koronarer Intervention gefolgt von einer Erhaltungsdosis. Es hat sich zur Reduktion periinterventioneller ischämischer Ereignisse, insbesondere zur Prophylaxe subakuter Stentthrombosen bewährt. Trotzdem konnte in der bisherigen Literatur bei 4–30% der behandelten Patienten ein suboptimales Ansprechen auf Clopidogrel nachgewiesen werden [10–13] (siehe ◻ Tab. 48.2).

Verschiedene Einflussfaktoren, die für das Ansprechen auf die antithrombozytäre Therapie mit Clopidogrel relevant sind, werden diskutiert. Dabei sind sowohl klinische Einflussfaktoren (Diabetes mellitus, akutes Koronarsyndrom, Alter, Niereninsuffizienz und eingeschränkte kardiale Funktion) als auch Medikamenteninteraktionen und genetische Polymorphismen diskutiert worden (◻ Abb. 48.2; [51]). Bezüglich letzterer sind in der kürzeren Vergangenheit v. a. für Polymorphismen des CYP-2C19-Isoenzyms eine relevante Bedeutung für die Thrombozyteninhibition und die Prognose mit Clopidogrel behandelter Patienten beschrieben worden (◻ Tab. 48.3).

### 48.3.2 Messmethoden

Unterschiedliche Messmethoden sind inzwischen angewandt worden, um die Clopidogrel-abhängige Thrombozyteninhibierung zu charakterisieren. Dabei hat sich in der klinischen Routine bisher keines der Verfahren als Standardmethode durchgesetzt, und auch die Grenzen, um ein suboptimales Therapieansprechen zu definieren, sind sehr unterschiedlich in der Literatur beschrieben worden. Sie richten sich zumeist an der Gesamtverteilung der Messwerte im untersuchten Patientenkollektiv. Als Goldstandard gilt weiterhin die Lichttransmissionsaggregometrie. Dabei wird ADP als Agonist benutzt.

Ein Grund für die in der Literatur zu findende Variabilität der durch diese Methode definierten Responder-Raten liegt u. a. in den unterschiedlichen Konzentrationen (2–20 μMol/l), die in den entsprechenden Arbeiten verwendet wurden. Zudem findet sich sowohl die Angabe der maximalen als auch der späten Aggregation in der Beschreibung der Werte.

Da die ADP-induzierte Aggregationsmessung unspezifisch ist für den $P2Y_{12}$-ADP-Rezeptor, der durch Clopido-

**◻ Tab. 48.2.** Prävalenz der Clopidogrelresistenz in der Literatur

| Patientenkollektiv | Clopidogrel-LD (mg) | Methode | Clopidogrel-resistenz (%) | Referenz |
|---|---|---|---|---|
| Elektive PTCA (n=150) | 600 | Agg in PRP | 5 | Müller et al. 2003 [10] |
| Elektive PTCA (n=96) | 300 | Agg in PRP | 31 | Gurbel et al. 2003 [11] |
| KHK, chronische Herzinsuffizienz, gesunde Testpersonen (n=544) | 300 | Agg in PRP | 4,2 | Serebruany 2005 [12] |
| NSTEMI + PTCA (n=60) | 300 | Agg in PRP | 13 | Matetzky et al. 2004 [13] |
| Elektive PTCA (n=18) | 300 | Durchflusszytometrie | 27 | Jaeremo et al. 2002 [39] |
| Elektive PTCA und gesunde Testpersone (n=114) | 75 | VASP | >30 | Abeil et al. 2005 [40] |
| Elektive und akute PTCA (n=57) | 300 | VASP | 17,5 | Grossmann et al. 2004 [41] |
| Elektive PTCA (n=50) | 300 | Thrombelastograph | 30 | Mobley et al. 2004 [42] |

*Agg* Aggregometrie; *KHK* koronare Herzkrankheit; LD »loding dose«; NSTEMI Nicht-ST-Hebungs-Infarkt; PRP plättchenreiches Plasma; *PTCA* perkutane transluminale Koronarangioplastie; *VASP* vasodilatorstimuliertes Phosphoprotein

**Tab. 48.3.** Bedeutung von Polymorphismen des CYP 2C19 für die Therapieffektivität von Clopidogrel

| Studiendesign | Effekt | Referenz |
|---|---|---|
| 603 Patienten mit akuten Koronarsyndromen (ACS, Nicht-ST-Hebung) unter dualer antithrombozytärer Therapie | Höhere Aggregation, VASP-P-Index und ADP-induzierte P-Selectin-Expression bei CYP2C19*2-Trägern | Frere et al. 2008 [43] |
| 797 Patienten, elektive Stentimplantation, Initialdosis Clopidogrel 600 mg, Erhaltungsdosis 75 mg/Tag | Höhere Thrombozytenrestaggregation nach Clopidogrel-Initialdosis (23% vs. 11%) und unter chronischer Therapie (11% vs. 7%) bei CYP2C19*2-Trägern im Vergleich zum Wildtyp | Trenk et al. 2008 [44] |
| 1.419 Patienten mit ACS und dualer antithrombozytärer Therapie | Höhere durch ADP und Arachidonsäure induzierte Aggregation bei CYP2C19*2-Trägern | Giusti et al. 2007 [45] |
| 237 Patienten mit koronarer Stentimplantation, Intialdosis Clopidogrel 600 mg | Höhere thrombozytäre Restaggregation bei CYP2C19*2-Trägern (Odds-Ratio 4,6; 95% CI: 2,5–8,7; p<0,0001), Verbesserung der Vorhersagekraft durch nicht genetische Risikofaktoren und CYP2C19*2-Polymorphismus | Geisler et al. 2008 [46] |
| 259 Patienten, Alter <45 Jahre, überlebter Myokardinfarkt | Signifikant höhere Ereignisrate des kombinierten Endpunkts (Tod, wiederholter Myokardinfarkt und dringliche Myokardrevaskularisation) sowie von Stentthrombosen bei CYP2C19*2-Trägern, mittlere Nachverfolgungszeit 2,8 Jahre | Collet et al. 2009 [47] |
| 162 gesunde Testpersonen und 1.477 mit Clopidogrel behandelte Patienten mit ACS, Subkollektiv der TRITON-TIMI-38-Studie | Höhere Rate des primären Endpunkts (Tod, Myokardinfarkt und Schlaganfall) sowie Stentthrombosen, niedrigere Spiegel des aktiven Metaboliten und abgeschwächte Hemmung der Thrombozytenaggregation bei CYP2C19*2-Trägern | Mega et al. 2009 [48] |
| 2.208 Patienten mit akuten Myokardinfarkten, Registerstudie | Höhere Ereignisrate (Tod, Myokardinfarkt, Schlaganfall) bei Patienten mit mindestens 2 Funktionsverlustvarianten (*2, *3, *4, oder *5) des CYP2C19-Gens und homozygote Träger des ABCB1-Polymorphismus innerhalb 1-Jahres-Nachverfolgung | Simon et al. 2009 [49] |

*ACS* akutes Koronarsyndrom

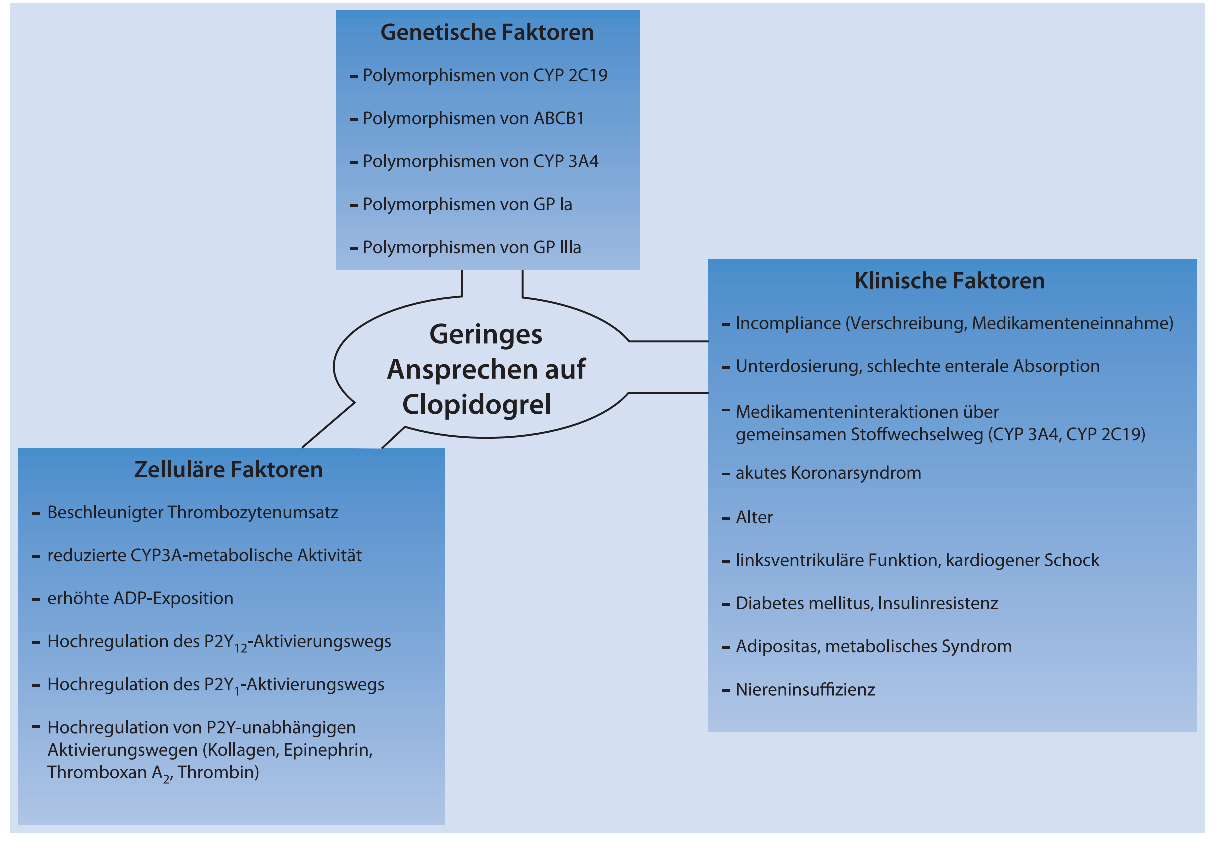



**Abb. 48.2.** Einflussfaktoren für das Ansprechen auf Clopidogrel

grel blockiert wird, sind inzwischen andere $P2Y_{12}$-spezifische Tests entwickelt worden. Hierzu zählt die durchflusszytometrische Bestimmmung des Phosphorylierungsgrades des vasodilatorstimulierten Phosphoproteins (VASP). Der Grundsatz dieses Messverfahrens besteht in dem Mechanismus der ADP-$P2Y_{12}$-Rezeptor-vermittelten Hemmung der Prostaglandin-($PGE_1$-)induzierten Phosphorylierung von VASP. Bei kompletter Blockierung des $P2Y_{12}$-Rezeptors durch Clopidogrel lässt sich keine relevante Verminderung der VASP-P-Konzentration durch Stimulation mit $PGE_1$ und ADP verglichen mit $PGE_1$ alleine messen. Der Unterschied zwischen PGE1 und PGE1 plus ADP-induzierter VASP-P-Konzentration wird als »$P2Y_{12}$ reactivity ratio« angegeben. Er korreliert mit der Clopidogrel-abhängigen Thrombozyteninhibierung.

Der VerifyNow© Point-of-Care-Test (Accumetrics) misst die Thrombozytenaktivierung mit einem ähnlichen Prinzip. Durch ADP und $PGE_1$ als Agonisten wird die $P2Y_{12}$-spezifische Thrombozytenaggregation an fibrinogenbeschichteten Mikrokugeln ermittelt. Gleichzeitig wird die ADP-unabhängige Aktivierung durch TRAP (Thrombozytenrezeptor-aktivierendes Peptid) gemessen, wodurch indirekt die relative Thrombozyteninhibierung ermittelt werden kann, ohne dass ein Basiswert vor Clopidogreltherapie vorliegen muss.

### 48.3.3 Klinische Bedeutung

Es wurden bisher mehrere Studien zur Beurteilung des Risikos für atherothrombotische Ereignisse bei nachgewiesenem suboptimalem Ansprechen auf Clopidogrel veröffentlicht. Dabei hat sich unabhängig von der verwendeten Definition der Clopidogrelresistenz und der angewandten Methodik gezeigt, dass eine ineffektive Clopidogrel-abhängige Thrombozytenhemmung mit dem Auftreten ischämischer Ereignisse assoziiert ist.

In einer zahlenmäßig kleinen Kohorte von Patienten mit ST-Hebungsmyokardinfarkten lag die Ereignisrate kombinierter ischämischer Ereignisse bei 40% in der Gruppe von Individuen mit einer Thrombozytenhemmung im untersten Quartil des Kollektivs [13]. In der PREPARE POST-STENTING Studie zeigten Gurbel und Mitarbeiter an 192 Patienten mit elektiver koronarer Stentimplantation, dass bei Patienten mit konsekutiven ischämischen Ereignissen signifikant höhere Thrombozytenaggregation und Clot-Stärken in der thromboelastographischen Bestimmung messbar waren [14].

In kürzlich veröffentlichten Studien konnte eine prognostische Bedeutung für die residuelle ADP-induzierte Thrombozytenaggregation nachgewiesen werden. So lag die Rate unerwünschter kardiovaskulärer Ereignisse in Studien an unterschiedlichen Patientenkollektiven zwischen 3,5% (30 Tage) und 22,7% (3 Monate) in den oberen Quartilen des Patientenkollektivs [15–17].

Insbesondere zeigten Patienten, die eine Stentthrombose entwickelten, eine ineffektive Clopidogrel-Wirkung gemessen durch verschiedene Thrombozytenfunktionstests [18, 19, 50].

## 48.4 Therapeutische Alternativen

Alternativen bei nachgewiesenem geringem Ansprechen bestehen in einer Dosiserhöhung der bisherigen antithrombozytären Therapie.

**! Aus verschiedenen Studien ist bekannt, dass eine Erhöhung der Clopidogrel-Aufsättigungsdosis von 300 mg auf 600 mg zu einer bedeutsamen Verstärkung des maximalen antiaggregatorischen Effekts führt, wohingegen sich durch eine weitere Steigerung keine wesentlich bemerkbare zusätzliche Wirkung erreichen lässt [20, 21].**

Dabei konnte in randomisierten Studien an kleineren Patientenkollektiven ein Effekt einer passageren Erhöhung der Erhaltungsdosis von Clopidogrel auf die Thrombozytenhemmung nachgewiesen werden [22, 23]. Eine in Einzelreporten beschriebene Alternative bei Nicht-Ansprechen auf Clopidogrel stellt die Therapie mit Ticlopidin dar. Obwohl diese Substanz ebenfalls zu den Thienopyridinen gehört und somit über denselben Mechanismus wirkt, konnte doch eine zusätzliche Thrombozytenhemmung bei Patienten, bei denen ein geringes Ansprechen auf Clopidogrel nachgewiesen wurde, in Einzelfällen gezeigt werden [24].

Vielverprechend sind neuere Substanzen, zu denen Prasugrel, das Thienopyridin der dritten Generation, gehört. Diese Substanz zeichnet sich durch einen höheren Plasmawirkspiegel und einen wesentlich schnelleren Wirkungseintritt aus und unterliegt keinem Ceiling-Effekt [25]. Dadurch lässt sich eine wesentlich höhere Thrombozyteninhibierung verglichen mit Ticlopidin und Clopidogrel erreichen [26, 27]. Die Ergebnisse laufender klinischer Studien werden zeigen, ob das Phänomen der Variabilität des Ansprechens bei Prasugrel geringer ausgeprägt ist als bei den Vorläuferthienopyridinen.

Weitere $P2Y_{12}$-Rezeptorantagonisten werden derzeit in Phase-III-Studien überprüft (Tab. 48.3). Zu ihnen gehört die Substanz AZD-6140, der erste reversible orale ADP-Rezeptorantagonist. Bisherige Daten deuten auf eine geringere Variabiliät der Thrombozytenhemmung verglichen mit Clopidogrel hin [28, 29]. Bezüglich der Sicherheit (schwerwiegende Blutungskomplikationen) zeigte sich in der DISPERSE-2-Studie keine Unterlegenheit gegenüber der Behandlung mit Clopidogrel bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom (ohne ST-Hebungen). In einer Phase-III-

**Tab. 48.4.** Neuere $P2Y_{12}$-Inhibitoren

| Substanz | Klasse | Wirkmechanismus | Verabreichungsform | Dosis | Thrombozyteninhibierung (%) | Max. Wirkeintritt |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Prasugrel (CS-747) | Thienopyridine | Irreversible Bindung an $P2Y_{12}$ hepatische Metabolisierung notwendig | Oral | 60 mg Aufsättigung<br>10 mg/Tag Erhaltungsdosis | ~70 | <1 h |
| Cangrelor | ATP-Analogon | Kompetitive Bindung an $P2Y_{12}$ keine Metabolisierung notwendig | Parenteral | 4 µg/kgKG/min | ~95 | Wenige Minuten |
| AZD-6140 | Zyklopenthyltriazolpyrimidin | Kompetitive Bindung an $P2Y_{12}$ keine Metabolisierung notwendig | Oral | 90 mg 2-mal/Tag | ~95 | 2–4 h |

Studie (PLATO) wird die Effektivität in der Reduktion ischämischer Ereignisse evaluiert werden.

Cangrelor (AR-C69931MX), ein weiterer in der klinischen Evaluation befindlicher $P2Y_{12}$-Rezeptorantagonist, kann intravenös verabreicht werden. Er bindet als ATP-Analogon kompetitiv und spezifisch an den $P2Y_{12}$-Rezeptor auf Thrombozyten. Ein Vorteil dieser Substanz ist eine hochpotente, dosisabhängige und rapid reversible Hemmung der Thrombozytenaggregation [30].

## Literatur


[1] Mehta SR, Yusuf S, Peters RJ et al. (2001) Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events trial (CURE) Investigators. Effects of pretreatment with clopidogrel and aspirin followed by long-term therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the PCI-CURE study. Lancet 358(9281): 527–33

[2] Steinhubl SR, Berger PB, Mann JT 3rd, Fry ET, DeLago A, Wilmer C, Topol EJ; CREDO Investigators (2002 ) Clopidogrel for the Reduction of Events During Observation. Early and sustained dual oral antiplatelet therapy following percutaneous coronary intervention: a randomized controlled trial. JAMA 288(19): 2411–20

[3] Gum PA, Kottke-Marchant K, Poggio ED, Gurm H, Welsh PA, Brooks L, Sapp SK, Topol EJ (2001) Profile and prevalence of aspirin resistance in patients with cardiovascular disease. Am J Cardiol 88(3): 230–5

[4] Patrono C (2003) Aspirin resistance: definition, mechanisms and clinical read-outs. J Thromb Haemost 1: 1710–3

[5] Catella-Lawson F, Reilly MP, Kapoor SC, Cucchiara AJ, DeMarco S, Tournier B, Vyas SN, FitzGerald GA (2001) Cyclooxygenase inhibitors and the antiplatelet effects of aspirin. N Engl J Med 345: 1809–1817

[6] Fateh-Moghadam S, Plockinger U, Cabeza N, Htun P, Reuter T, Ersel S, Gawaz M, Dietz R, Bocksch W (2005) Prevalence of aspirin resistance in patients with type 2 diabetes. Acta Diabetol 42(2): 99–103

[7] Borna C, Lazarowski E, van Heusden C, Ohlin H, Erlinge D (2005) Resistance to aspirin is increased by ST-elevation myocardial infarction and correlates with adenosine diphosphate levels. Thromb J 3(1): 10

[8] Gum PA, Kottke-Marchant K, Welsh PA, White J, Topol EJ (2003) A prospective, blinded determination of the natural history of aspirin resistance among stable patients with cardiovascular disease. J Am Coll Cardiol 41: 961–965

[9] Chen WH, Lee PY, Ng W, Tse HF, Lau CP (2004) Aspirin resistance is associated with a high incidence of myonecrosis after non-urgent percutaneous coronary intervention despite clopidogrel pretreatment. J Am Coll Cardiol 43(6): 1122–6

[10] Müller I, Besta F, Schulz C, Massberg S, Schömig A, Gawaz M (2003) Prevalence of clopidogrel non-responders among patients with stable angina pectoris scheduled for elective coronary stent placement. Thromb Haemost 89(5): 783–7

[11] Gurbel PA, Bliden KP, Hiatt BL, O'Connor CM (2003) Clopidogrel for coronary stenting: response variability, drug resistance, and the effect of pretreatment platelet reactivity. Circulation 107(23): 2908–13

[12] Serebruany VL, Steinhubl SR, Berger PB, Malinin AI, Bhatt DL, Topol EJ (2005) Variability in platelet responsiveness to clopidogrel among 544 individuals. J Am Coll Cardiol 45(2): 246–51

[13] Matetzky S, Shenkman B, Guetta V et al. (2004) Clopidogrel resistance is associated with increased risk of recurrent atherothrombotic events in patients with acute myocardial infarction. Circulation 109(25): 3171–5

[14] Gurbel PA, Bliden KP, Guyer K, Cho PW, Zaman KA, Kreutz RP, Bassi AK, Tantry US (2005) Platelet reactivity in patients and recurrent events post-stenting: results of the PREPARE POST-STENTING Study. J Am Coll Cardiol 46(10): 1820–6

[15] Geisler T, Langer H, Wydymus M, Göhring K, Zürn C, Bigalke B, Stellos K, May AE, Gawaz M (2006) Low response to clopidogrel is associated with cardiovascular outcome after coronary stent implantation. Eur Heart J 27: 2420–2425

[16] Hochholzer W, Trenk D, Bestehorn HP et al. (2006) Impact of the degree of peri-interventional platelet inhibition after loading with clopidogrel on early clinical outcome of elective coronary stent placement. J Am Coll Cardiol 48(9): 1742–50

[17] Cuisset T, Frere C, Quilici J, Barbou F, Morange PE, Hovasse T, Bonnet JL, Alessi MC (2006) High post-treatment platelet reactivity identified low-responders to dual antiplatelet therapy at increased risk of recurrent cardiovascular events after stenting for acute coronary syndrome. J Thromb Haemost 4(3): 542–9

[18] Wenaweser P, Dorffler-Melly J, Imboden K, Windecker S, Togni M, Meier B, Haeberli A, Hess OM (2005) Stent thrombosis is associated with an impaired response to antiplatelet therapy. J Am Coll Cardiol 45: 1748–52

[19] Gurbel PA, Bliden KP, Samara W, Yoho JA, Hayes K, Fissha MZ, Tantry US (2005) Clopidogrel effect on platelet reactivity in patients with stent thrombosis: results of the CREST Study. J Am Coll Cardiol 46(10): 1827–32

[20] von Beckerath N, Taubert D, Pogatsa-Murray G, Schomig E, Kastrati A, Schomig A (2005) Absorption, metabolization, and antiplatelet effects of 300-, 600-, and 900-mg loading doses of clopidogrel: re-

sults of the ISAR-CHOICE (Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen: Choose Between 3 High Oral Doses for Immediate Clopidogrel Effect) Trial. Circulation 112(19): 2946–50

[21] Montalescot G, Sideris G, Meuleman C et al.; ALBION Trial Investigators (2006) A randomized comparison of high clopidogrel loading doses in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndromes: the ALBION (Assessment of the Best Loading Dose of Clopidogrel to Blunt Platelet Activation, Inflammation and Ongoing Necrosis) trial. J Am Coll Cardiol 48(5): 931–8

[22] Angiolillo DJ, Shoemaker SB, Desai B et al. (2007) Randomized Comparison of a High Clopidogrel Maintenance Dose in Patients With Diabetes Mellitus and Coronary Artery Disease. Results of the Optimizing Antiplatelet Therapy in Diabetes Mellitus (OPTIMUS) Study. Circulation 115(6): 708–16

[23] Von Beckerath N, Kastrati A, Wieczorek A, Pogatsa-Muray G, Sibbing D, Schoemig A (2006) A double-blind randomized comparison between two different clopidogrel maintenance doses after percutanous coronary interventions (ISAR-CHOICE 2 Trial). Eur Heart J 27: 5039

[24] Aleil B, Rochoux G, Monassier JP, Cazenave JP, Gachet C (2007) Ticlopidine could be an alternative therapy in the case of pharmacological resistance to clopidogrel: a report of three cases. J Thromb Haemost 5(4): 879–81

[25] Niitsu Y, Jakubowski JA, Sugidashi A et al. (2005) Pharmacology of CS-747 (prasugrel, LY640315), a novel, potent antiplatelet agent with in vivo P2Y12 receptor antagonist activity. Semin Thromb Haemost 31: 184–94

[26] Brandt JT, Payne CD, Wiviott SD, Weerakkody G, Farid NA, Small DS, Jakubowski JA, Naganuma H, Winters KJ (2007) A comparison of prasugrel and clopidogrel loading doses on platelet function: magnitude of platelet inhibition is related to active metabolite formation. Am Heart J 153(1): 66.e9–16

[27] Jernberg T, Payne CD, Winters KJ et al. (2006) Prasugrel achieves greater inhibition of platelet aggregation and a lower rate of non-responders compared with clopidogrel in aspirin treated patients with stable coronary artery disease. Eur Heart J 27: 1166–73

[28] Van Giezen JJ, Humphries RG (2005) Preclinical and clinical studies with selective reversible direct $P2Y_{12}$ antagonists. Semin Thromb Hemost 31: 195–204

[29] Husted S, Emanuelsson H, Heptinstall S, Sandset PM, Wickens M, Peters G (2006) Pharmacodynamics, pharmacokinetics, and safety of the oral reversible P2Y12 antagonist AZD6140 with aspirin in patients with atherosclerosis: a double-blind comparison to clopidogrel with aspirin. Eur Heart J 27: 1038–47

[30] Greenbaum AB, Grines CL, Bittl JA et al. (2006) Initial experience with an intravenous $P2Y_{12}$ platelet receptor antangonist in patients undergoing percutanous coronary intervention: results from a 2-part, phase II, multicenter, randomized, placebo-and active-controlled trial. Am Heart J 151: 689, e1–10

[31] Buchanan MR, Brister SJ (1995) Individual variation in the effects of ASA on platelet function: implications for the use of ASA clinically. Can J Cardiol 11: 221–7

[32] Hurlen M, Seljeflot I, Arnesen H (1998) The effect of different antithrombotic regimens on platelet aggregation after myocardial infarction. Scand Cardiovasc J 32: 233–7

[33] Pappas JM, Westengard JC, Bull BS (1994) Population variability in the effect of aspirin on platelet function. Implications for clinical trials and therapy. Arch Pathol Lab Med 118: 801–4

[34] Mueller MR, Salat A, Stangl P et al. (1997) Variable platelet response to low-dose ASA and the risk of limb deterioration in patients submitted to peripheral arterial angioplasty. Thromb Haemost 78(3): 1003–7

[35] Gum PA, Kottke-Marchant K, Poggio ED, Gurm H, Welsh PA, Brooks L, Sapp SK, Topol EJ (2001) Profile and prevalence of aspirin resistance in patients with cardiovascular disease. Am J Cardiol 88(3): 230–5

[36] Grotemeyer KH (1991) Effects of acetylsalicylic acid in stroke patients. Evidence of nonresponders in a subpopulation of treated patients. Thromb Res 63(6): 587–93

[37] Grundmann K, Jaschonek K, Kleine B, Dichgans J, Topka H (2003) Aspirin non-responder status in patients with recurrent cerebral ischemic attacks. J Neurol 250: 63–6

[38] Fateh-Moghadam S, Plöckinger U, Cabeza N et al. (2005) Prevalence of aspirin resistance in patients with type 2 diabetes. Acta Diabetol 42: 99-103

[39] Järemo P, Lindahl TL, Fransson SG, Richter A (2002) Individual variations of platelet inhibition after loading doses of clopidogrel. J Intern Med 252: 233–8

[40] Aleil B, Ravanat C, Cazenave JP, Rochoux G, Heitz A, Gachet C (2005) Flow cytometric analysis of intraplatelet VASP phosphorylation for the detection of clopidogrel resistance in patients with ischemic cardiovascular diseases. J Thromb Haemost 3: 85–92

[41] Grossmann R, Sokolova O, Schnurr A, Bonz A, Porsche C, Obergfell A, Lengenfelder B, Walter U, Eigenthaler M (2004) Variable extent of clopidogrel responsiveness in patients after coronary stenting. Thromb Haemost 92: 1201–6

[42] Mobley JE, Bresee SJ, Wortham DC, Craft RM, Snider CC, Carroll RC (2004) Frequency of nonresponse antiplatelet activity of clopidogrel during pretreatment for cardiac catheterization. Am J Cardiol 93(4): 456–8

[43] Frere C, Cuisset T, Morange PE et al. (2008) Effect of cytochrome p450 polymorphisms on platelet reactivity after treatment with clopidogrel in acute coronary syndrome. Am J Cardiol 101(8): 1088–93

[44] Trenk D, Hochholzer W, Fromm MF et al. (2008) Cytochrome P450 2C19 681G>A polymorphism and high on-clopidogrel platelet reactivity associated with adverse 1-year clinical outcome of elective percutaneous coronary intervention with drug-eluting or bare-metal stents. J Am Coll Cardiol 51(20): 1925–34

[45] Giusti B, Gori AM, Marcucci R et al. (2007) Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism, but not CYP3A4 IVS10 + 12G/A and P2Y12 T744C polymorphisms, is associated with response variability to dual antiplatelet treatment in high-risk vascular patients. Pharmacogenet Genomics 17(12): 1057–64

[46] Geisler T, Schaeffeler E, Dippon J et al. (2008) Cytochrome P450 2C19 and non-genetic factors predict poor responsiveness to clopidogrel loading dose after coronary stent implantation. Pharmacogenomics 9(9): 1251-9

[47] Collet JP, Hulot JS, Pena A et al. (2009) Cytochrome P450 2C19 polymorphism in young patients treated with clopidogrel after myocardial infarction: a cohort study. Lancet 373(9660): 309–17

[48] Mega JL, Close SL, Wiviott SD et al. (2009) Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel. N Engl J Med 360(4): 354–62

[49] Simon T, Verstuyft C, Mary-Krause M (2009) French Registry of Acute ST-Elevation and Non-ST-Elevation Myocardial Infarction (FAST-MI) Investigators. Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events. N Engl J Med 360(4): 363–75

[50] Buonamici P, Marcucci R, Migliorini A, Gensini GF, Santini A, Paniccia R, Moschi G, Gori AM, Abbate R, Antoniucci D (2007) Impact of platelet reactivity after clopidogrel administration on drug-eluting stent thrombosis. J Am Coll Cardiol 49: 2312–7

[51] Geisler T, Grass D, Bigalke B, Stellos K, Drosch T, Dietz K, Herdeg C, Gawaz M (2008) The Residual Platelet Aggregation after Deployment of Intracoronary Stent (PREDICT) score. J Thromb Haemost 6(1): 54–61

# 52 Antiaggregatorische Therapie

*K. Schrör*

## Einleitung

Standardsubstanz und Referenzverbindung aller Thrombozytenfunktionshemmer ist Acetylsalicylsäure (ASS). Alternativen zu ASS sind ADP-Rezeptorantagonisten wie die Thienopyridine Clopidogrel und Ticlopidin. Alle diese Substanzen sind oral anwendbar und daher auch für die längerdauernde prophylaktische Verordnung geeignet. Eine weitere Gruppe klinisch verwendeter Antiplättchensubstanzen sind Inhibitoren des Plättchenglykoprotein-IIb-IIIa-(GP-IIb-IIIa-)Rezeptors. Hierzu gehören Abciximab, Tirofiban und Eptifibatide. Diese Pharmaka hemmen ausschließlich die Plättchenaggregation, nicht aber die Plättchenfunktion, d. h. die physiologischen Signalwege der Plättchenaktivierung.

Neben diesen klassischen Antiplättchensubstanzen gibt es noch weitere Verbindungen, die die Plättchenfunktion indirekt über eine Erhöhung des cAMP-Spiegels hemmen, aber nicht spezifisch für Thrombozyten sind. Hierzu gehören die Phosphodiesterasehemmer Dipyridamol und Cilostazol, die beide auch die Adenosinaufnahme (in Erythrozyten) herabsetzen und dadurch Adenosinwirkungen verstärken können. Schließlich besitzen auch andere kardiovaskulär verwendete Wirkstoffe Antiplättchenwirkungen als einen (gewünschten) Nebeneffekt einer aus anderen Indikationen erfolgenden Anwendung. Hierzu gehören (lipophile) Statine wie Simvastatin sowie organische Nitrate und $Ca^{++}$-Antagonisten.



## 52.1 Wirkungsmechanismen

Eine Übersicht über die Wirkungsmechanismen von Antiplättchensubstanzen zeigt Abb. 52.1. Nach Stimulation durch chemische Agonisten (Thrombin, Kollagen, ADP u. a.) oder mechanische Irritation durch Scherstress kommt es zu einer rezeptormediierten Plättchenaktivierung mit Formwandel (»shape change«) und Sekretion von Granulabestandteilen (z. B. ADP oder Wachstumsfaktoren). Gleichzeitig wird die Arachidonsäure-Kaskade aktiviert und Thromboxan $A_2$ ($TxA_2$) über die Plättchenzyklooxygenase (COX-1) synthetisiert. $TxA_2$ und ADP wirken als positive Rückkopplungsmechanismen über spezifische Membranrezeptoren und verstärken die Plättchenaktivierung und -sekretion. Im Endeffekt kommt es zu einer Aktivierung des GP-IIb-IIIa-Rezeptors. Dieser kann in der aktivierten Form Fibrinogen binden und über Fibrinogenbrücken mit anderen Plättchen Aggregate bilden.

ASS hemmt die Tx-Synthese durch irreversible Hemmung der Zyklooxygenase-1 (COX-1). Dipyridamol (und Cilostazol) wirken synergistisch mit ASS durch eine Erhöhung des Plättchen-cAMP-Spiegels. Dieser Effekt resultiert aus einer Phosphodiesterasehemmung und Verstärkung von Adenosinwirkungen. Thienopyridine besetzen den $P2Y_{12}$-Rezeptor und hemmen die ADP-induzierte Thrombozytenaktivierung und -sekretion. Beide Substanzen wirken synergistisch, greifen aber nicht direkt in die primäre Plättchenreaktion ein, die lediglich verlangsamt abläuft. Eine vollständige Hemmung der Plättchenaggregation tritt nicht ein.

Im Gegensatz dazu verhindern GP-IIb-IIIa-Antagonisten die Ligandenbindung (Fibrinogenbindung) am GP-IIb-IIIa-Rezeptor und damit die Ausbildung von Fibrinogenbrücken zwischen Thrombozyten. Die Substanzen binden mit vergleichbarer Aktivität am ruhenden und aktivierten GP-IIb-IIIa-Rezeptor und führen bei vollständiger Rezeptorblockade (>90%) zu lang anhaltenden Blutungen. Die Wirkung von GP-IIb-IIIa-Antagonisten ist ausschließlich extrathrombozytär, eine Hemmung der Thrombozytenfunktion erfolgt nicht. Daher sind sie immer gemeinsam mit Thrombozytenfunktionshemmern klinisch anzuwenden.

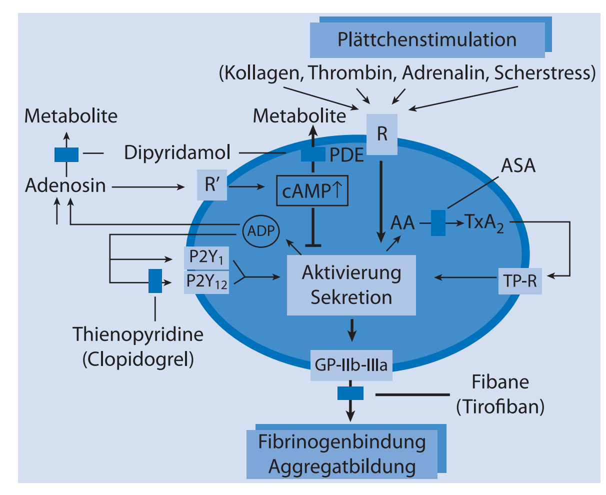



**Abb. 52.1.** Wirkorte von Antiplättchensubstanzen. *AA* Arachidonsäure; *$P2Y_{12}$*, *$P2Y_1$* thrombozytenspezifische Membranrezeptoren; *R* multiple Rezeptoren für Plättchenagonisten; *R'* Adenosin-A2-Rezeptor; *TP-R* Thromboxanrezeptor; *$TxA_2$* Thromboxan $A_2$

### 52.1.1 Acetylsalicylsäure

Acetylsalicylsäure (ASS) hemmt die Thromboxansynthese in Thrombozyten durch Hemmung der Zyklooxygenase-1 (COX-1; Catella-Lawson 2001). Dies führt zu einer Hemmung von Plättchenformwandel, -sekretion und -aggregation. Die Hemmung der Thromboxansynthesekapazität der Thrombozyten muss mindestens 95% betragen, um zu einer klinisch nachweisbaren Hemmung der Plättchenfunktion zu führen.

**! Hemmung der Thromboxansynthese bzw. Antiplättchenwirkungen von ASS sind irreversibel für jeden gegebenen Thrombozyten und können lediglich funktionell durch Freisetzung neuer Thrombozyten aus dem Knochenmark antagonisiert werden.**

Bei einer täglichen Plättchenumsatzrate von ca. 15% sind etwa 6–7 Tage bis zur vollständigen Erneuerung des zirkulierenden Plättchenpools erforderlich und etwa 3–4 Tage bis zur funktionellen Erholung der Thrombozyten nach Absetzen von ASS, d. h. einer Normalisierung der Blutungszeit.

Die systemische Bioverfügbarkeit von Standard-ASS-Tabletten beträgt etwa 50% und ist dosisunabhängig. Bei Formulierungen mit verzögerter Wirkstofffreisetzung kann die systemische Bioverfügbarkeit auf 20% oder weniger reduziert sein. Vorteil davon ist eine geringere Hemmung der vaskulären Prostazyklinbildung im systemischen Kreislauf, Nachteil ist eine verlangsamte und geringere Resorption mit enzymatischer ASS-Spaltung – d. h. Inaktivierung – durch Esterasen der Darmwand vor Erreichen des Pfortaderblutes.

#### Kombination von ASS und Dipyridamol

Dipyridamol und Cilostazol hemmen die Plättchenaggregation durch Erhöhung des cAMP-Spiegels. Dies beruht auf einer Hemmung von Phosphodiesterase(n) und Verstärkung von Adenosinwirkungen (Abb. 52.1). Eine Kombination von ASS mit Dipyridamol, z. B. in Form eines fixen Kombinationspräparats (Aggrenox®), lässt eine synergistische Wirkungsverstärkung über 2 unterschiedliche Wirkungsmechanismen erwarten. Dagegen verlängert Cilostazol weder allein noch in Kombination mit Plättchenfunktionshemmern die Blutungszeit.

### 52.1.2 Thienopyridine

Clopidogrel (Plavix®, Iscover®) und Ticlopidin (z. B. Tiklyd®) sind chemisch eng verwandte Thienopyridine. Die Substanzen selbst sind Prodrugs, der wirksame Metabolit entsteht in der Leber über verschiedene Cytochrom-P450-Isoenzyme. Dieser aktive Metabolit blockiert einen purinergen, thrombozytenspezifischen Membranrezeptor ($P2Y_{12}$). Dieser Rezeptor ist an ein inhibitorisches G-Protein ($G_i$) gekoppelt. Er hemmt nach Aktivierung die thrombozytäre cAMP-Bildung und senkt damit den cAMP-Spiegel der Thrombozyten. Letztlich resultiert eine Hemmung der ADP-induzierten Aktivierung des Fibrinogenrezeptors (GP-IIb-IIIa) auf Thrombozyten, was die Bindung natürlicher Liganden (Fibrinogen, Von-Willebrand-Faktor) verhindert.

### 52.1.3 GP-IIb-IIIa-Rezeptorantagonisten

Abciximab (ReoPro®), Tirofiban (Aggrastat®) und Eptifibatide (Integrilin®) sind klinisch verwendete GP-IIb-IIIa-Antagonisten. Funktionell handelt es sich um Antiintegrine, d. h. Inhibitoren der integrinvermittellten interzellulären Signaltransduktion (Schrör u. Gawatz 2003). Die Substanzen hemmen kompetitiv die Bindung von Fibrinogen oder Von-Willebrand-Faktor am (aktivierten) GP-IIb-IIIa-Rezeptor und verhindern damit die Bildung von Plättchenaggregaten über GP-IIb-IIIa-fixierte Fibrinogenbrücken zwischen Thrombozyten.

Alle Substanzen wirken extrathrombozytär und sind thrombozytenspezifisch, da der GP-IIb-IIIa-Rezeptor nur auf Thrombozyten exprimiert ist.

**! Eine kombinierte Anwendung mit Thrombozytenfunktionshemmern (z. B. ASS oder Clopidogrel) ist in jedem Fall sinnvoll und notwendig.**

Für eine klinisch relevante Wirkung müssen mindestens 80% der verfügbaren GP-IIb-IIIa-Rezeptoren blockiert werden. Blockade von mehr als 90% führt zu anhaltenden Blutungen. Alle Substanzen wirken reversibel.

Abciximab ist das chimäre (Maus/Mensch) Fab-Fragment eines monoklonalen Antikörpers gegen den GP-IIb-IIIa-Rezeptor der Thrombozyten. Aufgrund der hohen Affinität der Substanz zu ihren thrombozytären Bindungsstellen ist die Halbwertszeit an Thrombozyten mit ca. 24 h deutlich länger als die Plasmahalbwertszeit mit ca. 20–30 min. Diese langsame »off-rate« unterscheidet sich ebenfalls von den niedermolekularen Substanzen.

Tirofiban und Eptifibatide sind synthetische niedermolekulare GP-IIb-IIIa-Rezeptorantagonisten mit kurzer Plasmahalbwertszeit und Wirkdauer von jeweils ca. 1,5–2 h. Die Ausscheidung erfolgt als aktive Substanzen über die Niere. Dies erfordert eine Dosisanpassung bei Nierenfunktionsstörungen.

## 52.2 Indikationen

### 52.2.1 Acetylsalicylsäure

Acetylsalicylsäure ist Mittel der Wahl für die Sekundärprophylaxe des Myokardinfarkts und ischämischer zerebraler Insulte sowie die Basistherapie für die Prävention akuter atherothrombotischer Komplikationen, z. B. bei akutem Koronarsyndrom (instabile Angina pectoris, akuter Myokardinfarkt) und perkutanen Koronarinterventionen (perkutane transluminale koronare Angioplastie [PTCA], Stentimplantation).

Das fixe Kombinationspräparat ASS/Dipyridamol (Aggrenox®) ist für die Sekundärprävention ischämischer Schlaganfälle und transienter ischämischer Attacken zugelassen. Eine protektive Wirkung bei der Herzinfarktprophylaxe besteht nicht.



### 52.2.2 Thienopyridine

Clopidogrel ist aus der Gruppe der Thienopyridine heute als Thrombozytenfunktionshemmer das Präparat der Wahl mit einem ähnlichen Indikationsbereich wie ASS. Clopidogrel ist die therapeutische Alternative zur ASS bei ASS-Resistenz (siehe unten) oder -unverträglichkeit und bei Patienten, die unter ASS erneut atherothrombotische Ereignisse aufweisen. Ticlopidin ist eine Alternative bei Clopidogrelresistenz (▶ Kap. 52.5). Grund ist wahrscheinlich ein von Clopidogrel unterschiedliches Spektrum von P450-Enzymen, die zur Bioaktivierung erforderlich sind (Siller-Matula et al. 2007).

Eine kombinierte Anwendung von Clopidogrel und ASS ist aufgrund des unterschiedlichen Wirkungsmechanismus indiziert bei Risikopatienten zur Verhinderung thrombotischer Gefäßverschlüsse (In-Stent-Thrombose) in Hochrisikosituationen, z. B. bei perkutanen Koronarinterventionen oder akutem Koronarsyndrom. Die (minimale) Anwendungsdauer ist noch unklar. Sie sollte aber bei beschichteten Stents mindestens 12 Monate betragen (Geisler et al. 2008).

### 52.2.3 GP-IIb-IIIa-Antagonisten

Die antiaggregatorische Wirkung von GP-IIb-IIIa-Rezeptorantagonisten wird bei klinischen Akutsituationen mit Sofortinterventionen wie dem akuten Koronarsyndrom genutzt. Alle Substanzen sind für die Prävention eines drohenden Myokardinfarkts bei Patienten mit instabiler Angina pectoris oder nicht transmuralem Infarkt zugelassen. Abciximab kann darüber hinaus auch als Zusatzmedikation zu ASS und Heparin bei akuter perkutaner Koronarintervention verabreicht werden (Schrör u. Gawatz 2003).

## 52.3 Dosierung und Applikation

### 52.3.1 Acetylsalicylsäure

Eine Initialdosis von 250–500 mg ASS i.v. führt bei akuter Myokardischämie bei nicht ASS-vorbehandelten Patienten zur raschen und vollständigen Hemmung der thrombozytären Thromboxansynthese und damit Plättchenhemmung. Die empfohlene Erhaltungsdosis bei Langzeitanwendung beträgt 100–300 mg/Tag.

Das Kombinationspräparat ASS/Dipyridamol (Aggrenox®) enthält 200 mg Dipyridamol in einer Retardformulierung sowie 25 mg ASS und wird als fixe Kombination oral 2-mal täglich verabreicht. Die empfohlene Dosierung für Cilostazol (Pletal®) beträgt 150 mg 2-mal täglich.

### 52.3.2 Thienopyridine

Die optimale Initialdosis von Clopidogrel zur Absättigung der Plättchen-$P2Y_{12}$-Rezeptoren beträgt 600 mg oral, die empfohlene Erhaltungsdosis 75 mg/Tag. Erhöhung der Sättigungsdosis auf 900 mg bringt keine zusätzliche Wirkungsverstärkung. Ob eine Erhöhung der Erhaltungsdosis auf 150 mg/Tag effektiver ist als 75 mg, ist noch nicht abschließend geklärt. Die empfohlene Erhaltungsdosis von Ticlopidin beträgt 250 mg 2-mal täglich.

### 52.3.3 GP-IIb-IIIa-Antagonisten

Abciximab wird i.v. als Bolus mit anschließender Infusion appliziert. Die Dosis beträgt 0,25 mg/kgKG als i.v.-Bolus zur Aufsättigung, nachfolgend 0,125 µg/kgKG/min. Bei Patienten mit instabiler Angina pectoris soll die Therapie bis zu 24 h vor einem möglichen Eingriff begonnen und spätestens 12 h nach dem Eingriff beendet werden. Die Dosierung von Tirofiban beträgt 0,4 µg/kgKG/min i.v. über 30 min zur Aufsättigung und 0,1 µg/kgKG/min als Erhaltungsdosis zur Dauerinfusion. Die Dosierung von Eptifibatide beträgt 180 µg/kgKG als i.v.-Bolus zur Aufsättigung und 2 µg/kgKG/min für bis zu 72 h als Erhaltungsdosis.

## 52.4 Nebenwirkungen

Die häufigsten unerwünschten Wirkungen aller Antiplättchensubstanzen sind Blutungen, insbesondere schwere (Magen-Darm-Trakt, ZNS) und lebensbedrohende Blutungen. Inwieweit diese ein Absetzen einer (Dauer-)Therapie vor operativen Eingriffen rechtfertigen, ist strittig.

> **Für das am besten untersuchte ASS ist ein Absetzen bei Patienten mit erhöhtem kardiovaskulärem Risiko (z. B. koronare Bypass-Chirurgie) nicht zu empfehlen, da das (zwar häufige aber geringgradige) Blutungsrisiko das Risiko eines thrombotischen Gefäßverschlusses nicht aufwiegt (Mangano et al. 2002).**

Ähnliche Überlegungen gelten für Thienopyridine.

### 52.4.1 Acetylsalicylsäure

ASS führt bei Daueranwendung in der kardiovaskulären Prophylaxe zu Reizungen der Schleimhaut im Magen-Darm-Trakt mit erhöhtem Risiko für Magen-Darm-Ulzera. Allerdings scheint die Schädigung der Magenmukosa einen direkten Kontakt der Substanz mit der Magenschleimhaut zu erfordern. Das Risiko von blutenden Magenulzera lässt sich durch Komedikation von Protonenpumpenhemmern weitgehend aufheben. Galenische Alternativen sind magensaftresistente Präparate (z. B. Aspirin® protect). Eine Hemmung der COX-1 durch ASS im Bronchialsystem kann in seltenen Einzelfällen die Auslösung von Asthmaanfällen begünstigen.

Die Antiplättchenwirkung von ASS kann durch gleichzeitige Verabreichung von reversiblen Inhibitoren der COX-1 (Indometacin, Ibuprofen) aufgehoben werden. Grund ist eine sterische Hemmung der ASS-Bindung im hydrophoben Kanal des COX-1-Proteins. Interessanterweise gelten ähnliche Mechanismen aber auch für Metamizol und andere strukturverwandte Pyrazolidine (Hohlfeld et al. 2008). Metamizol kann in analgetischer Dosierung die Antiplättchenwirkung von ASS (reversibel) aufheben (Abb. 15.2.). Die mögliche klinische Bedeutung dieses Befundes, etwa bei der postoperativen Schmerzbehandlung, ist noch offen.

Das Kombinationspräparat ASS plus Dipyridamol hat das Nebenwirkungsprofil beider Komponenten. Am häufigsten sind Kopfschmerzen und andere Nebenwirkungen der Dipyridamolkomponente, die nach dem Ergebnis klinischer Studien bei ca. 30% der Patienten zum Therapieabbruch führen. Kopfschmerzen sind auch eine häufige Nebenwirkung von Cilostazol.

### 52.4.2 Thienopyridine

Ticlopidin kann bei 20% der Patienten zu Diarrhoen und bei 2–5% der Patienten zu Neutropenien unterschiedlichen Schweregrads bis hin zur Agranulozytose führen. Dies und die Verfügbarkeit von Clopidogrel als besser verträglicher Alternative haben zum weitgehenden Verzicht auf Ticlopidin geführt. Auch Clopidogrel kann Diarrhoen verursachen.

### 52.4.3 GP-IIb-IIIa-Antagonisten

Unerwünschte Wirkungen von GP-IIb-IIIa sind vor allem eine erhöhte Rate schwerer Blutungskomplikationen aufgrund der geringen therapeutischen Breite. Klinisch kann es zu einer Thrombozytopenie kommen, die wahrscheinlich auf einer Bildung von Antikörpern gegen die

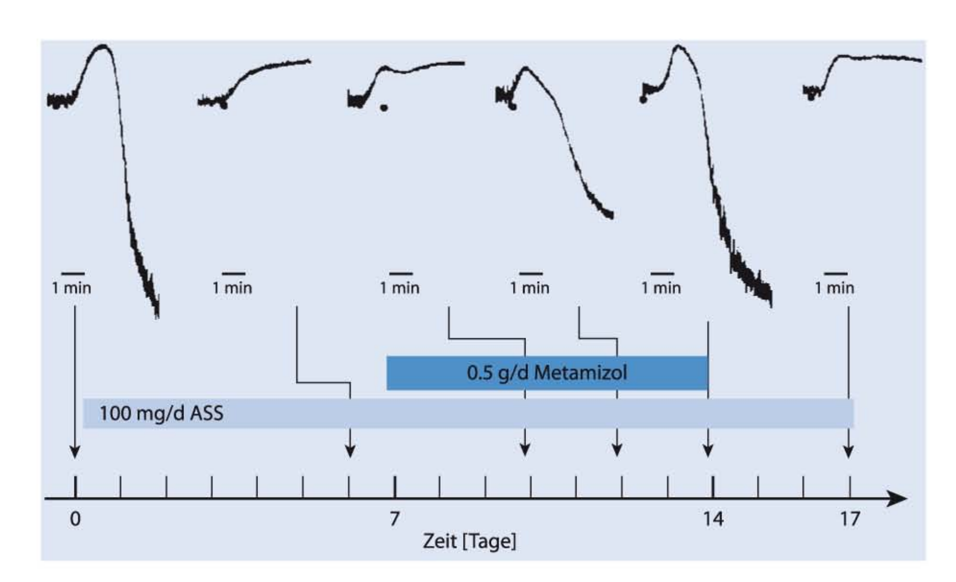



**Abb. 52.2.** Aufhebung der Antiplättchenwirkung von ASS durch Metamizol. Die Abbildung zeigt die Originalregistrierung einer Plättchenaggregationsmessung bei einem gesunden Probanden nach täglicher Einnahme von 100 mg ASS. Dies führt zu einer vollständigen Aggregationshemmung, die bei Komedikation von Metamizol aufgehoben wird. Diese antagonistische Wirkung von Metamizol auf die Hemmung der Plättchenaggregation von ASS ist nach Absetzen voll reversibel

**Tab. 52.1.** Mechanismen der pharmakologischen Variabilität von ASS und Clopidogrel

| ASS | Clopidogrel |
|---|---|
| **Bezogen auf die Substanz** | |
| *Pharmakokinetik* | |
| – Unzureichende Bioverfügbarkeit<br>– Kompetition mit der Bindung in der COX-1 durch reversible nichtsteroidale Antiphlogistika (Ibuprofen, Indometacin, Naproxen) oder Metamizol | – Unzureichende Bioverfügbarkeit (Absorption aus dem Darm, hepatische Bioaktivierung)<br>– hereditäre Variabilität bioaktivierender Cytochrom-P450-Isoenzyme (CYP3A4, CYP3A5, CYP2B6, CYP2C19) |
| *Pharmakodynamik* | |
| – Reduzierte Empfindlichkeit der Plättchen-COX-1<br>– Genpolymorphismen | – Reduzierte Ansprechbarkeit der Plättchen-$P2Y_{12}$-Rezeptoren<br>– Genpolymorphismen |
| **Bezogen auf die Krankheit** | |
| – Plättchenhyperreaktivität aufgrund ASS-insensitiver Mechanismen (endotheliale Dysfunktion)<br>– Plättchensensibilisierung durch Isoprostane | – Plättchenhyperreaktivität aufgrund $P2Y_{12}$-insensitiver Mechanismen (endotheliale Dysfunktion) |

modifizierten GP-IIb-IIIa-Rezeptoren beruht. Diese Antikörper sind nicht blockierende Antikörper und verursachen auch bei wiederholter Applikation keine allergischen Reaktionen.

## 52.5 »Resistenz«

Die individuelle Ansprechbarkeit von Patienten auf ASS und Thienopyridine ist unterschiedlich. Bei einem Anteil von 20–40% der behandelten Personen (adäquate Compliance vorausgesetzt!) kommt es zu einer unzureichenden Hemmung der Plättchenfunktion trotz einer ausreichenden Dosierung. Dieses Phänomen wird im allgemeinen Sprachgebrauch als »Resistenz« bezeichnet. Die Ursachen einer solchen unzureichenden Wirkung von Antiplättchensubstanzen nach therapeutisch üblichen Dosen sind multifaktoriell und sowohl krankheits- als auch substanzbezogen (Tab. 52.1; Schrör et al. 2006).

Von großem praktischem Interesse wären eine frühzeitige Erfassung solcher »Resistenzen« bei der Auswahl von Antiplättchensubstanzen und v. a. eine bessere Kenntnis der klinischen Relevanz. Leider existiert bis heute weder eine allgemein anerkannte Definition noch ein allgemein anerkanntes Bestimmungsverfahren oder gar ein Normwertbereich. Nach aktueller Auffassung erfordert eine mögliche ASS-»Resistenz« kein generelles Screening bei allen Patienten, die einer ASS-Prophylaxe zugeführt werden. Im Falle von Clopidogrel ist die Situation anders, da hier die thrombotischen Komplikationen, aber auch Blutungsrisiken wesentlich größer sind, dies gilt vor allem für kombinierte Anwendung bei Hochrisikopatienten.

Geisler und Mitarbeiter (2008) haben kürzlich erstmals ein Bewertungsschema vorgeschlagen, das im Gegensatz dazu auch die Art und den Schweregrad der atherosklerotischen Grunderkrankung berücksichtigt. Ob sich dieser interessante Ansatz in der Praxis bewähren wird, bleibt abzuwarten.

## Literatur

Catella-Lawson F, Reilly MP, Kapoor SC, Cucchiara AJ et al. (2001) Cyclooxygenase inhibitors and the antiplatelet effect of aspirin. N Engl J Med 345: 1809–17

Geisler T, Graß D, Bigalke B et al. (2008) The residual platelet aggregation after deployment of intracoronary stent (PREDICT) score. J Thromb Haemost 6: 54–61

Hohlfeld, T, Zimmermann N, Weber A-A, Weber H et al. (2008) Pyrazolinone analgesics prevent the antiplatelet effect of aspirin and preserve human platelet thromboxane synthesis. J Thromb Haemost 6: 166–73

Mangano DT for the Multicenter Study of Perioperative Ischemia Research Group (2002) Aspirin and mortality from coronary bypass surgery. N Engl J Med 347: 1309–17

Schrör K (ed) (2009) Acetylsalicylic Acid. Weinheim: Wiley-VCH

Schrör K, Hohlfeld T, Weber A-A (2006) Aspirin resistance – does it clinically matter? Clin Res Cardiol 95: 505–10

Schrör K, Gawaz M (Guest Editors) (2003) Antiplatelet and anticoagulant agents in cardiovascular disease: Basic research and clinical applications. Sem Vasc Med 3: 93–213

Schrör K, Weber A-A (2003) Comparative pharmacology of GP IIb/IIIa-antagonists. J Thromb Thrombolysis 15: 71–80

Siller-Matula J, Schrör K, Wojta J, Huber K (2007) Thienopyridines in cardiovascular disease: Focus on clopidogrel resistance. Thromb Haemost 97: 385–93

# 49 Thrombolytische Therapie im Kindesalter

*H.-J. Hertfelder*



Die thrombolytische Therapie im Kindesalter wird zur Behandlung von arteriellen und seltener von venösen Thromben eingesetzt. Insbesondere intrakardiale Thromben und Thromben in den herznahen oder hirnversorgenden Arterien, den Femoralarterien sowie der V. cava stellen eine Lyseindikation dar. Eine Thrombolysetherapie (Lysetherapie) wird systemisch mit rekombinantem t-PA (»tissue-type«-Plasminogenaktivator) durchgeführt, das in einem Bolus von 0,2–0,5 mg/kgKG über 30 min mit einer nachfolgenden Erhaltungsdosis von 1 mg/kgKG pro 24 h verabreicht wird. Kurzstreckige frische Verschlüsse sind meist innerhalb von 24–48 h wieder eröffnet.

In Einzelfällen kann nach entsprechender Nutzen-Risiko-Abwägung die Lysetherapie über Tage fortgesetzt werden. Eine Begleitantikoagulation mit niedrig dosiertem unfraktioniertem Heparin, das initial mit 150–200 IE/kgKG pro 24 h i.v. verabreicht wird, ist in den meisten Fällen ratsam.

Die häufigsten Nebenwirkungen einer Lysetherapie sind Blutungen. Zur Blutungsprophylaxe sollten vor Lysebeginn relevante Hämostasestörungen identifiziert und korrigiert werden. Während der Lysetherapie sollten die Thrombozytenzahlen, die APTT (aktivierte partielle Thromboplastinzeit) und der Fibrinogenwert regelmäßig kontrolliert werden.



## 49.1 Einleitung

Thrombotische und thromboembolische Ereignisse sind im Kindesalter sehr selten. Die jährliche Inzidenz spontaner Thrombosen wird mit etwa 1:100.000 angegeben (Nowak-Göttl et al. 1999; Streif u. Schermer 2001). Da thrombotische bzw. thromboembolische Komplikationen selbst mit einer erheblichen sekundären Morbidität und Mortalität verbunden sind, ist ihre Behandlung für die weitere, möglichst unbeeinträchtigte körperliche Entwicklung des betroffenen Kindes von zentraler Bedeutung (Monagle et al. 2008; Nowak-Göttl et al. 1999; Streif u. Schermer 2001).

Obwohl inzwischen zahlreiche Erfahrungsberichte zu thrombolytischen Behandlungen im Neugeborenen- und Kindesalter vorliegen, sind bisher noch keine kontrollierten klinischen Studien durchgeführt worden. Dies kann zum einen auf die große Heterogenität der thrombotischen Komplikationen in dieser Altersgruppe zurückgeführt werden und mag zum anderen an ethischen Problemen sowie an der oft mangelnden Verfügbarkeit von Mitteln für die Durchführung von Studien bei Kindern liegen (Monagle et al. 2008; Nowak-Göttl et al. 1999; Streif u. Schermer 2001).

Die bei Erwachsenen erprobten Lysetherapieschemata sind nicht ohne weiteres auf Kinder zu übertragen (Andersen et al. 1991; Nowak-Göttl et al. 1991, 1999; Streif u. Schermer 2001; Wang et al. 2003). Dies ist u. a. darauf zurückzuführen, dass sich thrombotische bzw. thromboembolische Trigger zwischen Erwachsenen und Kindern unterscheiden. Gefäßveränderungen wie atherosklerotische Plaques kommen im Kindesalter extrem selten vor (Streif u. Schermer 2001). Thromboembolische Komplikationen entstehen hier meist sekundär bei gravierenden Grunderkrankungen. Ätiologie und Lokalisation sind hoch variabel. Altersabhängige Veränderungen des sich entwickelnden hämostatischen Systems beeinflussen die Entstehung von Thromben sowie das Ansprechen auf eine thrombolytische Behandlung. So ist die Fähigkeit der Bildung von Plasmin im Neugeborenenblut aufgrund der physiologischerweise niedrigen Plasminogenkonzentration zumindest unter In-vitro-Bedingungen herabgesetzt (Andrew et al. 1990, 1992; Ries et al. 1995).

## 49.2 Indikationen

Das Indikationsspektrum zur thrombolytischen Behandlung im Kindesalter umfasst thrombotische Gefäßverschlüsse an den unterschiedlichsten Lokalisationen (Nowak-Göttl et al. 1999; Streif u. Schermer 2001).

**! Arterielle Verschlüsse sind am häufigsten nach Herzkatheteruntersuchungen anzutreffen (Streif u. Schermer 2001; Weiner et al. 1998).**

Diese werden meist dann klinisch manifest, wenn nach Katheterentfernung die arterielle Durchblutung gestört ist. Es findet sich häufig ein Verschluss im Bereich der Femoralarterie an der Stelle des Katheterzugangs. Dabei handelt es sich nicht selten um eine Mischform von Gefäßverschlussmechanismen, die sich aus einer punktionsbedingten Dissektion der Intima, einem im Punktionsabschnitt ausgelösten Vasospasmus und einem thrombotischen Verschluss zusammensetzt (Streif u. Schermer 2003).

Thrombosierungen entlang bereits seit mehreren Tagen liegender zentralvenöser Katheter (ZVK) sind ebenfalls gelegentlich zu beobachten. Je nach Lage der Katheterspitze können die Thromben im rechten Vorhof liegen, sodass hieraus eine Lungenemboliegefahr erwachsen kann. Die über die Femoralvenen in die V. cava inferior platzierten ZVK sind mit einem etwas höheren Thrombosierungsrisiko behaftet als die über die V. cava superior platzierten Katheter. Bei Neugeborenen können Thrombosierungen entlang von Umbilikalvenenkathetern auftreten (Anderson et al. 1991; Nowak-Göttl et al. 1999).

Auch bei akuten Verschlüssen von hirnversorgenden Arterien als Ursache eines ischämischen Insults ist die Indikation zur Lysetherapie zu prüfen (Monagle et al. 2008). Bei frischen langstreckigen Verschlüssen der tiefen Bein- oder Armvenen ist im Kindesalter eine Lyse zur Frühprävention eines postthrombotischen Syndroms zu erwägen. Allerdings ist hier eine individuelle Nutzen-Risiko-Prüfung der Indikation im Vergleich mit der alternativen Behandlung durch therapeutische Antikoagulation mit einem niedermolekularen Heparin vorzunehmen (Monagle et al. 2008).

## 49.3 Kontraindikationen

Eine Lysetherapie ist kontraindiziert, wenn neben der thromboembolischen Komplikation gleichzeitig eine manifeste Blutung oder ein hohes Blutungsrisiko besteht. Hierbei sind die Risiken aus den Konsequenzen der Thrombose und einer Blutung abzuwägen. Lysen können auch bei vaskulären Malformationen mit hohem Blutungsrisiko kontraindiziert sein (Manco-Johnson u. Grabowski 2002; Monagle et al. 2008; Streif u. Schermer 2001).

Eine angeborene Blutungsneigung, z. B. bei Patienten mit Hämophilie A bzw. B, stellt nur eine relative Kontraindikation dar, insbesondere dann, wenn Thrombosierungen bei diesen Patienten unter der Substitution mit Faktor-VIII- bzw. Faktor-IX-Konzentrat entstanden sind. Hier ist ggf. eine Thrombolyse unter fortgesetzter Substitution des Gerinnungsfaktors möglich (Streif u. Schermer 2001).

## 49.4 Durchführung der Lysetherapie

### 49.4.1 Lokale versus systemische Thrombolyse

Eine lokale Lyse mittels eines eigens zur Applikation des Thrombolytikums in die Nähe des Thrombus neu platzierten Katheters wird im Kindesalter selten durchgeführt, da die Gefahr einer zusätzlichen Traumatisierung des zu punktierenden Gefäßes infolge des häufig bestehenden Missverhältnisses zwischen Katheter- und Gefäßdurchmesser hoch ist.

Bei katheterassoziierten Thromben ist die lokale Applikation über den Katheter sinnvoll, wenn das Thrombolytikum dadurch über den Blutstrom in Richtung des Thrombus gelenkt wird. Sitzt die Katheterspitze hingegen hinter dem Thrombus, resultiert trotz lokaler Applikation über den Katheter eine systemische Lyse, da das Thrombolytikum den Thrombus erst nach Verteilung über die gesamte Zirkulation erreicht.

Eine lokale Lyse verhält sich bei einer Applikationsdauer des Thrombolytikums von mehr als 1–2 h wie eine systemische Lyse, da sich das Thrombolytikum gleichmäßig im Körper verteilt. Damit wächst auch das Blutungsrisiko.

**! Aus den genannten Gründen werden die meisten Lysen im Kindesalter als systemische Lysen durchgeführt. Hierbei erfolgt die Applikation des Thrombolytikums entweder über einen peripheren venösen Zugang oder einen ZVK.**

### 49.4.2 Auswahl des Thrombolytikums

Grundsätzlich stehen zur Thrombolyse mehrere Plasminogenaktivatoren zur Verfügung. Hierbei ist zwischen den direkten, fibrinunabhängigen Plasminogenaktivatoren Streptokinase und Urokinase sowie dem nur fibrinabhängig wirksamen Gewebsplasminogenaktivator (»tissue-type«-Plasminogenaktivator, t-PA) zu unterscheiden (Weitz et al. 1999). Die Anwendung von Streptokinase ist wegen wiederholter Berichte über schwere Blutungskomplikationen und allergische Reaktionen, die Anwendung von Urokinase aufgrund einer Warnung der FDA (Food and Drug Administration) vor der potenziellen Gefahr einer Virenübertragung in den Hintergrund gerückt (Haire et al. 1994; Übersicht Streif u. Schermer 2001).

Daher wird heute überwiegend t-PA als Wirkstoff eingesetzt. Am meisten verbreitet ist rekombinant hergestellter, der Sequenz des Humangenoms entsprechender t-PA (Alteplase; Dillon et al. 1993; Leaker et al. 1996; Klöcking u. Markwardt 1994; Knöfler et al. 1996; Monagle et al. 2008; Nowak-Göttl et al. 1991, 1999; Übersicht Streif u. Schermer 2001; Wang 2003).

### 49.4.3 Dosierungsschemata

Die Frage einer initialen t-PA-Bolusgabe ist strittig. Die Gabe eines Bolus erfolgt mit dem Ziel, den in etwa 100-fachem Überschuss gegenüber der physiologischen t-PA-Konzentration vorhandenen Plasminogenaktivator-Inhibitor PAI-1 zu neutralisieren und damit den thromboly-

tischen Prozess zu beschleunigen. Literaturangaben zur Höhe des Bolus umfassen einen Bereich von 0,1 mg–0,8 mg t-PA/kgKG. Die mittlere Bolusdosis beträgt 0,2–0,5 mg t-PA/kgKG (Manco-Johnson et al. 2002; Monagle et al. 2008; Übersicht Streif u. Schermer 2001).

Einzelberichte aus der Literatur deuten darauf hin, dass die Gabe eines t-PA-Bolus die Blutungsfrequenz erhöht (Schermer et al. 2000). Eigene Erfahrungen zeigen, dass bei sorgfältiger Prüfung des Blutungsrisikos auf klinischer und gerinnungsdiagnostischer Basis eine initiale Bolusgabe ohne erhöhtes Blutungsrisiko möglich ist.



Literaturberichte zur Erhaltungsdosis umfassen 0,006–1 mg t-PA/kgKG pro Stunde als Dauerinfusion. Bei den höchsten Dosierungen (0,5–1 mg/kgKG pro Stunde) traten gehäufte, zum Teil schwere Blutungen auf. Die mittlere Erhaltungsdosis beträgt 0,04–0,3 mg t-PA/kgKG pro Stunde (Übersicht: Streif u. Schermer 2001).

Einzelne Anwender berichten auch über wiederholte Bolusgaben von 1- bis 5-mal 0,5–1 mg t-PA/kgKG (als intraventrikuläre Applikaton bei posthämorrhagischem Hydrocephalus) sowie eine einmalige Bolusgabe von 0,1 mg t-PA/kgKG zur Lyse blockierter Katheter (Manco-Johnson et al. 2002; Monagle et al. 2008; Übersicht bei Streif u. Schermer 2001).

Die von uns selbst verwendeten Dosierungen betragen unter der Voraussetzung, dass kein erhöhtes klinisches Blutungsrisiko beim Kind besteht und ein altersgemäß normwertiges Gerinnungspotenzial vorliegt (Thrombozytenzahl >150 G/l, Quick-Wert >70–80%, APTT normwertig, Fibrinogen >1,5 g/l, ggf. Einzelgerinnungsfaktoren >60–70% der Norm):

- Bolus: 0,5 mg (0,2–0,5) mg/kgKG; der Bolus wird hierbei über 30 min. verabreicht,
- Erhaltungsdosis: 1,0–2,5 mg/kgKG pro 24 h.

Sofern ein klinisch erhöhtes Blutungsrisiko und/oder ein gegenüber den oben genannten Werten reduziertes Gerinnungspotenzial vorliegt, wird der Bolus auf 0,1–0,2 mg t-PA/kgKG reduziert.

**Cave**

Bei sehr hohem Blutungsrisiko, z. B. Lyse kurz nach einem operativen Eingriff (<2–5 Tage), wird auf den Bolus verzichtet.

### 49.4.4 Dauer der Lysetherapie

Die Lysedauer kann meist nicht vorherbestimmt werden. Kurzstreckige, frische Verschlüsse sind oft innerhalb von wenigen Stunden, in den meisten Fällen innerhalb von 24–48 h wieder eröffnet.

Bei älteren Thrombosierungen (>10–14 Tage) ist eine Lysetherapie aufgrund fortgeschrittener Organisation der Thromben meist nicht erfolgversprechend. Dennoch sind in Einzelfällen erfolgreiche Lysetherapien auch bei einem geschätzten Thrombusalter über 10–30 Tage beschrieben (Übersicht Streif u. Schermer 2001).

Eigenen Erfahrungen nach benötigen langstreckige Thrombosierungen entlang von Kathetern 3–7 Tage und mehr, bis sie vollständig thrombolytisch abgebaut sind. Eine einsetzende Thrombolyse ist im Ultraschall unter Umständen erst nach 2–3 Tagen erkennbar.

### 49.4.5 Begleitende Antikoagulation

Während der Thrombolyse wird infolge der Fragmentierung des Fibrins durch Plasmin im Thrombus eingeschlossenes, an Fibrin gebundenes Thrombin freigesetzt, was somit wieder als aktives Enzym zur Verfügung steht.

**Cave**

Es besteht daher die Gefahr, dass es über die thrombinvermittelte Aktivierung von Thrombozyten an der Thrombusoberfläche zur Bildung eines Plättchenthrombus kommt.

Dadurch kommt es zu einer starken Behinderung der Thrombolyse, die durch die fortschreitende Thrombozytenanlagerung bis hin zur Lyseresistenz eines Thrombus führen kann (Collen 1997). Vor diesem Hintergrund ist es ratsam, die Neutralisation des freigesetzten Thrombins durch Antithrombin durch niedrig dosierte Gabe von unfraktioniertem Heparin i.v. zu fördern.

Die Angaben zur Heparindosierung während und nach Beendigung der Lyse variieren in der Literatur beträchtlich. Während der Lyse bewegen sie sich zwischen 0 und 290 IE/kgKG pro 24 h. Bei höchsten (therapeutischen) Dosen von 960 IE/kgKG pro 24 h traten zum Teil schwere Blutungen auf. Die mittleren Dosierungen liegen bei 100–360 IE/kgKG pro 24 h. Nach Beendigung der Lyse werden 240–720 IE/kgKG pro 24 h verabreicht (Übersicht bei Streif u. Schermer 2001; Wang et al. 2003).

Die von uns eingesetzten Dosierungen betragen unter der Voraussetzung, dass kein erhöhtes klinisches Blutungsrisiko beim Kind besteht und ein altersgemäß normwertiges Gerinnungspotenzial vorliegt (Angaben zum Gerinnungspotenzial s.o.):

- während der Lyse: 150–200 IE/kgKG über 24 h,
- nach Beendigung: 530–800 IE/kgKG über 24 h (APTT-adjustiert mit 2-facher Verlängerung).

Sobald es klinisch vertretbar ist, stellen wir die Antikoagulation auf ein niedermolekulares Heparin, z. B. Enoxaparin s.c., in therapeutischer Dosierung (2-mal täglich 1,5–2 mg/kgKG in 12-Stunden-Abständen) unter Anti-Faktor-Xa-Monitoring ein (Monagle et al. 2008; Nowak-Göttl et al. 1999; Streif u. Schermer 2001).

### 49.4.6 Maßnahmen zur Stabilisierung des Gerinnungspotenzials

Vor Beginn der Lysetherapie ist es ratsam, das Gerinnungs- und Fibrinolysepotenzial auf ein hämostatisch gut ausreichendes Niveau anzuheben:
- Thrombozytenzahl >150 G/l,
- Quick-Wert >50%,
- APTT normwertig,
- Fibrinogen >1,5 g/l,
- ggf. Einzelgerinnungsfaktoren >40–60% der Norm.

Dies ist insbesondere bei Neugeborenen erforderlich, die bei konnatalen Thrombosen mit schweren begleitenden Gerinnungsstörungen im Sinne einer DIC (disseminierte intravasale Gerinnung) zur Welt kommen können. Ferner ist der Plasminogenspiegel im Neugeborenenalter häufig physiologischerweise vermindert (Andrew et al. 1990, 1992; Monagle et al. 2008). In diesem Falle ist es ratsam, vor Lysebeginn das Gerinnungspotenzial mit FFP (»fresh frozen plasma«; 15–20 ml/kgKG) und im Falle einer signifikanten Thrombozytopenie zusätzlich ggf. durch eine Thrombozytenkonzentratgabe (5–10 ml/kgKG) zu stabilisieren.

Erst dann sollte mit der Lyse begonnen werden. Da in solchen Situationen gleichzeitig ein hohes Blutungsrisiko besteht, sollte hier ohne t-PA-Bolus und mit niedrigster Begleitheparinisierung gearbeitet werden.

### 49.4.7 Monitoring

Die primäre Überwachung der Thrombolyse erfolgt durch tägliche Ultraschall- und Doppleruntersuchungen der Thrombusgröße. Eine einsetzende Rekanalisierung wird ferner durch Blutdruckmessungen in betroffenen Extremitätenabschnitten und, sofern verfügbar, pulsoximetrisch sowie klinisch dokumentiert (Übersicht: Streif u. Schermer 2001).

Eine Übersicht zum Monitoring (siehe Übersicht) der thrombolytischen Therapie geben Bovill et al. (1992).

Da das Thrombolytikum bei hoher Dosierung eine Fibrinogenolyse induzieren und dadurch den Fibrinogenspiegel senken kann, sollte Fibrinogen zumindest einmal täglich kontrolliert werden. Als weiterer Indikator einer Fibrinogenolyse eignet sich die Bestimmung der Reptilasezeit.

**Laboranalytisches Monitoring**
- Minimalprogramm:
  - Thrombozytenzahl (Blutbild)
  - Quick-Wert (nur Ausgangswert)
  - APTT
  - Thrombinzeit
  - Fibrinogen
  - D-Dimere
- Zusatzparameter:
  - Thrombelastographie/Thrombelastometrie
  - Reptilasezeit

Als wichtigster Parameter zur Funktion der Fibrinolyse dient der D-Dimer-Test. Ein Anstieg der D-Dimer-Spiegel spricht dafür, dass Fibrin im Körper des Kindes durch die Fibrinolyse fragmentiert wird. Bei einem regelhaften Lyseverlauf steigt der D-Dimer-Spiegel innerhalb von 1–2 h bereits an, erreicht je nach zu lysierender Thrombusmasse innerhalb von 6–24 h meist sein Maximum und fällt anschließend wieder langsam ab. Der maximale D-Dimer-Spiegel ist sehr variabel und kann bei kleiner Thrombusmasse oder schlechter Fibrinmobilisation nur geringfügig (<1,5- bis 2-faches des Ausgangswertes), bei großem Thrombus bzw. rascher Lyse durchaus das 50- bis 100-fache des Ausgangswertes erreichen.

**! Durch heparinsensitive Parameter (APTT, ggf. Thrombinzeit) wird die Begleitantikoagulation dahingehend überwacht, dass kein verstärkter Heparineffekt als Indikator eines zunehmenden Blutungsrisikos zu erkennen ist (Bovill 1992).**

Als hilfreiches diagnostisches Verfahren erweist sich nach unseren Erfahrungen das Thrombelastogramm (TEG) bzw. seine neue Variante, die Thrombelastometrie (ROTEM®). Mit TEG und ROTEM® kann man die Wirksamkeit der Thrombolyse indirekt in vitro nachweisen. Sofern ein ausreichend hoher freier t-PA-Spiegel auch im entnommenen Zitratröhrchen vorliegt, bewirkt dieser, dass der im TEG bzw. ROTEM® entstehende Thrombus in vitro langsam fragmentiert wird. Dadurch nimmt dessen Scherelastizität nach Durchlaufen des Maximums, welches ca. 30–50 min nach Start des Gerinnungsvorgangs erreicht wird, allmählich wieder ab.

Geschieht dies rasch, d. h. wird das Gerinnsel innerhalb von 60–120 min nach dem Maximum vollständig abgebaut, so deutet dies auf einen hohen t-PA-Spiegel hin. Dies kann ein Zeichen für ein erhöhtes Blutungsrisiko darstellen. Nimmt die Gerinnselstabilität jedoch in diesem Zeitraum nur um ca. 15–20% ab, so ist in vivo zwar ausreichend freies t-PA vorhanden, das Blutungsrisiko aber wahrscheinlich nicht überproportional erhöht.

## Literatur

Anderson BJ, Keeley SR, Johnson ND (1991) Caval thrombolysis in neonates using low doses of recombinant human tissue-type plasmonogen activator. Anaest Intensive Care 19: 22–27

Andrew M, Brooker L, Leaker M, Paes B, Weitz J (1992) Fibrin clot lysis by thrombolytic agents is impaired in newborns due to a low plasminogen concentration. Thromb Haemost 68: 325–330

Andrew M, Paes B, Johnston M (1990) Development of the hemostatic system in the neonate and young infant. Pediatr Hematol Oncol 12: 95–104

Bovill EG, Becker R, Tracy RP (1992) Monitoring Thrombolytic therapy. Prog Cardiovasc Dis 34: 279–294

Castanon MM, Gamba C, Kordich LC (2007) Insight into the profibrinolytic activity of dermatan sulphate: effects on the activation of plasminogen mediated by tissue or urinary plasminogen activator. Thromb Res 120: 745–752

Collen D (1997) Thrombolytic therapy. Thromb Haemost 78: 270–294

Dillon PW, Fox PS, Berg CJ, Cardella JF, Krummel TM (1993) Recombinant tissuer plasminogen activator for neonatal and pediatric vascular thrombolytic therapy. J Pediatr Surg 28: 1264–1268

Edelberg JM, Conrad HE, Pizzo V (1991) Heparin oligosaccharides enhance tissue-type plasminogen activator. A correlation between oligosaccharide length and stimulation of plasminogen activation. Biochemistry 30: 10999–11003

Edelberg JM, Pizzo V (1990) Kinetic analysis of the effects of heparin and lipoproteins on tissue plasminogen activator mediated plasminogen activation. Biochemistry 29: 5906–59

Haire WD, Atkinson JB, Stephens LC, Kotulak GD (1994) Urokinase versus recombinant tissue plasminogen activator in thrombosed central venous catheters: a double-blinded, randomized controlled trial. Thromb Haemost 72:543–547

Klöcking HP, Markwardt F (1994) Pharmacological Stimulation of tPA release. Pharmazie 49: 227–230

Knöfler R, Weissbarch G, Rupprecht E, Kabus M, Lauterbach I (1996) Thrombolytische Therapie mit rt-PA. Hämostaseologie 16: 232–235

Leaker M, Masicotte MP, Brooker LA, Andrew M (1996) Thrombolytic therapy in pediatric patients: a comprehensive review of the literature. Thromb Haemost 76 132–134

Manco-Johnson MJ, Grabowski EF et al. (2002) Recommendations for tPA Thrombolysis in Children. On behalf of the Scientific Subcommittee on Perinatal and Pediatric Thrombosis of the Scientific and Standardization Committee of the International Society of Thrombosis and Haemostasis. Thromb Haemost 88: 157–158

Monagle P, Chalmers E, Chan A, deVeber F, Kirkham F, Massicotte P, Michelson AD (2008) Antithrombotic Therapy in Neonates and Children: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). Chest 133 (6 Suppl): 844S–886S

Nowak-Göttl U, Auberger K, Halimeh S, Junker R, Klinge J, Kreuz WD, Ries M, Schlegel N (1999) Thrombolysis in newborn and infants. Thromb Haemost 82 (Supp 1): 112–116

Nowak-Göttl U, Kreuz WD, Schwabe D, Linde R, Kornhuber B (1991) Thrombolyse mit rt-PA bei Kindern mit arteriellen und venösen Thrombosen – ein neues Therapiekonzept. Klin Pädiatr 203: 350–362

Rapold HJ, Lu HR, Wu Z, Nijs H, Collen D (1991) Requirement of heparin for arterial and venous thrombolysis with recombinant tissure-type plasmonogen activator. Blood 77: 1020–1024

Ries M, Zenker M, Klinge J, Keuper H, Harms D (1995) Age-related differences in a clot lysis assay after adding different plasminogen activators in a plasma millieu in vitro. J Pediatr Hematol Oncol 17: 262–264

Schermer E, Streif W, Genser N, Frühwirth M, Trawoger R, Simma B (2000) Thrombolyse mit rekombinantem Gewebe-Plasminogenaktivator (rt-PA) bei 13 Kindern. Eine Fallserie. Wiener Klin Wochenschr 112: 927–933

Streif W, Schermer E (2001) Alteplase als ideales Thrombolytikum für Kinder: Erfahrungen an einem Schwerpunktkrankenhaus. Fibrinolyse 13: 18–24

Urano T, Ihara H, Suzuki Y, Takada Y, Takada A (2000) Coagulation-associated enhancement of fibrinolytic activity via neutralization of PAI-1 activity. Semin Thromb Hemost 26: 39–42

Wang M, Hays T, Balasa V, Bagatell R et al.; Coagulation Consortium (2003) Low-dose tissue plasminogen activator thrombolysis in children. J Pediatr Hematol Oncol 25: 379–386

Weiner GM, Castle VP, DiPietro MA, Faix RG (1998) Successful treatment of neonatal arterial thromboses with recombinant tissue plasmionogen activator. J Pediatr 133: 133–136

Weitz JJ, Stewart RJ, Fredenburgh JC (1999) Mechanisms of action of plasminogen activators. Thromb Haemost 82: 974–982

# Medikamente

# 53 Fibrinolytika

*M. Schwarz, C. Bode*

## Einleitung

Ein Großteil akutinternistischer Krankheitsbilder wird durch einen okklusiven Thrombus verursacht. Die Thrombolyse, also die Auflösung eines solchen Thrombus, ist dementsprechend ein essenzielles Therapiekonzept. Dieses hat sich jedoch in den letzten Jahren deutlich gewandelt; maßgeblich für den Wandel ist die gleichzeitig fortschreitende Weiterentwicklung katheterbasierter interventioneller Verfahren, die konkurrierende, aber auch mit lokaler Fibrinolyse kombinierte Wiedereröffnungstechniken ermöglichen.

Dem therapeutischen Effekt der medikamentösen Thrombolyse steht ein beträchtliches Blutungsrisiko gegenüber, das einerseits durch die Bedrohlichkeit der Situation gerechtfertigt ist, andererseits aber eine strenge Indikationsstellung und die Überprüfung von Kontraindikationen erforderlich macht und nach alternativen Therapieformen suchen lässt.



## 53.1 Fibrinolytische Substanzen

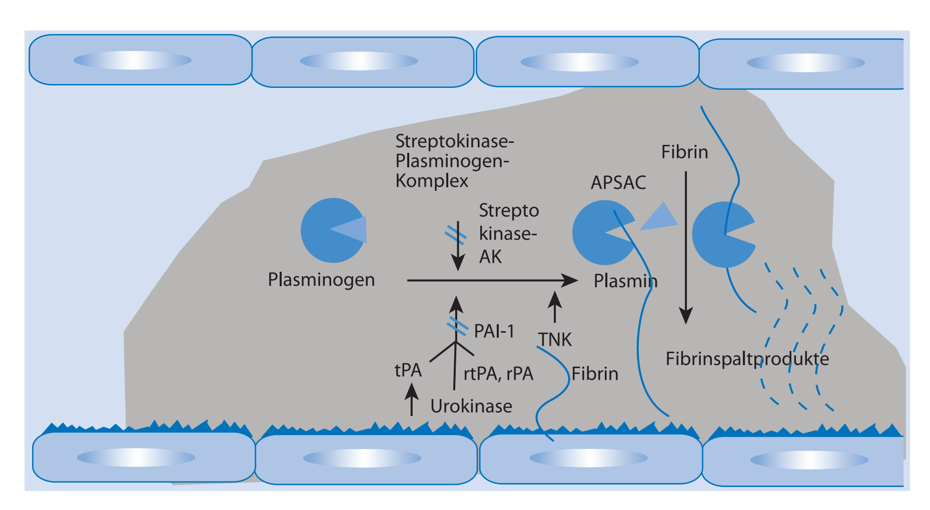
Der menschliche Körper besitzt ein ausgeklügeltes System fibrinolytischer Mechanismen (▶ Kap. 27), das als wichtiger Gegenspieler der blutstillenden, prothrombotischen Prozesse fungiert. Diese körpereigenen Mechanismen werden bei der fibrinolytischen Therapie entweder direkt oder indirekt aktiviert (◘ Abb. 53.1; ◘ Tab. 53.1).

Die initial eingesetzten Substanzen (Urokinase und Streptokinase) sind Naturprodukte, die relativ kostengünstig produziert werden können. Außerdem besteht aufgrund des langjährigen klinischen Einsatzes ein breites Erfahrungsspektrum bei zahlreichen Erkrankungen. Nachteil ist vor allem die antigene Wirkung.

rt-PA (Alteplase) ist das älteste rekombinante, also gentechnologisch hergestellte, Thrombolytikum. Hier wurde ein natürliches, im Körper vorkommendes Molekül (t-PA = »tissue plasmin activator«) zum Vorbild genommen. t-PA (Reteplase) und TNK (Tenecteplase) sind Abkömmlinge von rt-PA, die einige pharmakologische Vorteile besitzen. Allerdings konnte für den akuten Myokardinfarkt in klinischen Studien keine deutliche Verbesserung der Mortalität durch diese neueren Substanzen gezeigt werden. Der einzige letztlich nachgewiesene Vorteil der neueren Substanzen ist die Möglichkeit einer einfachen oder doppelten Bolusapplikation. Dieser Vorteil sollte nicht unterschätzt werden, da er den Therapieaufwand minimiert und Dosierungsfehler seltener entstehen. Dies ist insbesondere für die prästationäre Lyse wichtig.

### 53.1.1 Streptokinase

1893 entdeckten Tillet und Garner, dass ein extrazelluläres Protein, das von Streptokokken produziert wird, humane Blutkoagel aufzulösen vermag. Daraufhin konnte Strepto-




◘ **Abb. 53.1.** Das natürliche Fibrinolysesystem und Ansatzpunkte therapeutisch eingesetzter Fibrinolytika. *APSAC* »anisoylated plasminogen streptokinase activator complex«; *AK* Antikörper; *PAI-1* Plasminogenaktivator-Inhibitor-1; *t-PA* » tissue-type plasminogen activator«; *TNK* Threonin/N-Arginin/K-Lysin

kinase isoliert werden. Streptokinase stellt ein nicht enzymatisches Stoffwechselprodukt β-hämolysierender Streptokokken der Lancefield-Gruppe C mit indirektem Wirkmechanismus dar. Ein 1:1-Komplex aus Streptokinase und Plasminogen ist in der Lage, weitere Plasminogenmoleküle zu Plasmin zu aktivieren.

Bei extrem hoher Dosierung verliert Streptokinase an Wirksamkeit, da im Komplex vorliegende Plasminogenmoleküle nicht zu Plasmin aktiviert werden können. Antikörper, die aufgrund durchgemachter Streptokokkeninfekte vorhanden sein können, inaktivieren einen Teil der applizierten Streptokinase und erschweren so im Einzelfall die Festlegung der richtigen Dosierung.

**Cave**

Die hohe Antigenität lässt eine wiederholte Anwendung von Streptokinase im Regelfall nicht zu und kann auch schon bei der Erstanwendung zu anaphylaktischen Reaktionen führen.

Die Infusion von Streptokinase führt ferner bisweilen zu einem Blutdruckabfall, der bei Patienten mit frischem Myokardinfarkt nicht erwünscht ist. Schließlich ist Streptokinase nicht fibrinspezifisch. Daher geht die Wirkung dieses Medikaments stets mit einer Plasminämie, Erschöpfung des $\alpha_2$-Antiplasmin-Pools sowie mit einem meist erheblichen Abfall des Fibrinogens einher. In der Theorie führt die Umwandlung von fibringebundenem Plasminogen in Plasmin zu besonders günstigen Lyseresultaten. Da im Zustand der Plasminämie jedoch kein Plasminogen zur Bindung an neue Epitope der Thrombusoberfläche zur Verfügung steht (»plasminogen steal«), ergibt sich für die Praxis eine eingeschränkte Wirksamkeit. Es kann zum kompletten Zusammenbruch des hämostatischen Systems durch proteolytische Degradation kommen.

Trotz dieser Einschränkungen hat sich Streptokinase in der Klinik bewährt. Es wurde nachgewiesen, dass durch rechtzeitige intravenöse Applikation von Streptokinase eine Reduktion der akuten und späten Infarktmortalität erreicht werden kann. In mehreren Studien erwies sich intravenös verabreichte Streptokinase jedoch bezüglich der Wiedereröffnungsrate (»recanalisation rate«) mit nur 31% sowie bezüglich der Offenheitsrate (»patency rate«) mit 44–64% als ein Thrombolytikum mit begrenzter Wirksamkeit. Trotz der oben erwähnten theoretischen Nachteile treten schwere Blutungen unter Streptokinasetherapie mit einer Häufigkeit von weniger als 1% auf. Streptokinase ist derzeit das preisgünstigste Thrombolytikum und wird wahrscheinlich auch deshalb immer noch häufig eingesetzt.

### 53.1.2 Urokinase

Urokinase, ist ein natürlicherweise im menschlichen Körper vorkommendes Molekül. Es wirkt als Serinprotease und führt zu einer direkten Aktivierung von Plasminogen. Das Protein wurde durch die Beobachtung von Blutungen bei Operationen im Urogenitaltrakt entdeckt.

**! Urokinase wird aus menschlichem Urin aufgereinigt und wirkt daher – im Gegensatz zu Streptokinase – nicht antigen.**

Die Aufreinigung ist relativ aufwendig, und es werden große Urinmengen benötigt. Für die Indikation Herzinfarkt ist Urokinase in Deutschland derzeit nicht zugelassen.

### 53.1.3 APSAC (Anistreplase)

In dem Bemühen, einen fibrinspezifischen Plasminogenaktivator zu entwickeln, wurde ein präformierter Komplex aus Plasminogen, das an seinem aktiven Zentrum reversibel durch gebundene Streptokinase blockiert ist, synthetisiert. APSAC (»anisoylated plasminogen streptokinase activator complex«) enthält daher Streptokinase und ist somit antigen. Die daraus resultierenden Nachteile, insbesondere die Risiken bei kurzfristig wiederholter Anwendung, entsprechen denjenigen von Streptokinase.

Die aus den theoretischen Überlegungen abgeleitete Hoffnung, dass APSAC ein fibrinspezifischer Plasminogenaktivator sein würde, hat sich in der Praxis nicht erfüllt. Auch APSAC führt zu einem lang anhaltenden »lytischen Status«. Der einzige Vorteil ist die Möglichkeit einer Bolusapplikation. Allerdings ist die Substanz derzeit um ein Vielfaches teurer als Streptokinase, sodass die Substanz praktisch nicht mehr eingesetzt wird.

### 53.1.4 rt-PA (Alteplase)

Der rekombinante Gewebeplasminogenaktivator (»recombinant tissue-type plasminogen activator«, rt-PA) ist die gentechnologisch hergestellte Form des physiologischen Gewebeplasminogenaktivators (t-PA), der von mehreren menschlichen Geweben, einschließlich des Gefäßendothels, sezerniert wird.

Die Entwicklung der Substanz gelang durch die Isolierung von komplementärer t-PA-kodierender DNA aus humanen Melanomzellen. Produziert wird rt-PA in Ovarialzellkulturen des Hamsters (CHO-Zellen). rt-PA besteht aus 526 Aminosäuren. Das native einkettige Molekül kann durch Plasmin in die zweikettige Form überführt werden, die durch eine Disulfidbrücke zusammengehalten wird. Die dabei entstehende C-terminale Kette beinhaltet das enzy-

matische Zentrum, während die N-terminale Kette für die Fibrinaffinität des Enzyms verantwortlich ist.

Theoretisch beschränkt sich die fibrinolytische Aktivität weitgehend auf die Fibrinoberfläche im Thrombus, da rt-PA eine Fibrinbindungsstelle besitzt und die katalytische Effizienz durch Bindung an Fibrin etwa um den Faktor 1.000 erhöht wird. Kinetische Daten deuten darauf hin, dass dies durch die Bildung eines Komplexes aus rt-PA, Fibrin und Plasminogen erklärt werden kann.

Das heute in der Klinik zur Verfügung stehende rt-PA ist ganz überwiegend einkettig, was dem nativen Gewebeplasminogenaktivator entspricht. Bei den hohen Dosen, die zur Erzielung einer klinischen Effektivität verabreicht werden müssen, geht die Fibrinspezifität des rt-PA jedoch teilweise verloren. Besondere Besorgnis hat das vermehrte Auftreten von intrakraniellen Blutungen bei einer Dosierung von 150 mg ausgelöst. Zudem ist auch rt-PA um ein Vielfaches teurer als Streptokinase.



### 53.1.5 r-PA (Reteplase)

r-PA (»recombinant plasmin activator«) ist eine Deletionsmutante von rt-PA (Wooster u. Luzier 1999). Außerdem wird r-PA in E. coli exprimiert und ist somit im Gegensatz zu rt-PA nicht glykolysiert. R-PA besteht aus 355 Aminosäuren und ist ein einzelsträngiges Molekül. Die sogenannte Kringle-2-Domäne, die für die Fibrinspezifität verantwortlich ist, und die Proteasedomäme der rt-PA sind beibehalten worden. Dennoch zeigt r-PA eine reduzierte Fibrinspezifität. Die plasminogenaktivierende Potenz sowie die Inhibition durch PAI-1 (Plasminogenaktivator-Inhibitor 1) ist, verglichen mit rt-PA, weitgehend unverändert.

Genau wie rt-PA wird r-PA überwiegend hepatisch eliminiert. Aufgrund der Deletion einiger hierfür bedeutsamer Domänen (Kringle 1, Fibronektinfinger und »epidermal growth factor«) erfolgt der Abbau jedoch verzögert.

**! Die hierdurch verlängerte Halbwertszeit von ca. 18 min (versus 3–4 min bei rt-PA) ist günstig, da sie eine Bolusapplikation ermöglicht. Dies vereinfacht die Applikation in notfallmedizinischen Bereichen ungemein. Allerdings hat sich aufgrund vermehrter Reokklusionsraten bei einmaliger Applikation das Doppelbolusprinzip (2-malige Gabe von 10 IE im Abstand von 30 min) durchgesetzt.**

### 53.1.6 TNK (Tenecteplase)

Auch TNK ist eine veränderte Form der rt-PA. Allerdings wurden hier nicht ganze Regionen deletiert, sondern nur 3 Punktmutationen eingefügt. Der Name TNK leitet sich von den Kürzeln der mutierten Aminosäuren ab (T-Threonin, N-Arginin und K-Lysin).

An Stelle 103 wurde ein Threonin gegen Asparagin ausgetauscht. Hierdurch entstand eine neue Glykolysierungsstelle, die zur Anlagerung einer weiteren Kohlehydratkette führt und das Molekül größer macht. Eine weitere Mutation an Stelle 117 (Arginin gegen Glutamin) führt zu einer verminderten hepatischen Elimination. So konnte eine weitere Verlängerung der Halbwertszeit auf ca. 24 min erreicht werden. TNK muss aus diesem Grund nur als einmaliger Bolus gegeben werden.

Schließlich wurden die Aminosäuren Lysin, Histidin und 2-mal Arginin an Stelle 296–299 gegen Alanin ausgetauscht. Diese Mutation bewirkt eine ca. 80-fach verringerte Inhibition durch PAI-1.

## 53.2 Indikationen für eine fibrinolytische Therapie

Bei allen Erkrankungen, bei denen ein thrombotischer Verschluss pathogenetisch auslösend wirkt, erscheint eine fibrinolytische Therapie sinnvoll. Andererseits stehen bei

**Tab. 53.1.** Übersicht über die aktuell eingesetzten Fibrinolytika

| Fibrinolytikum | Eigenschaften | Fibrinspezifität | PAI-1-Resistenz | HWZ [min] |
|---|---|---|---|---|
| Streptokinase | Bakterielles Protein | – | – | 18 |
| Urokinase | Humanes Protein | – | – | 9–16 |
| APSAC | Rekombinanter Streptokinase-Plasminogen-Komplex | – | – | 70 |
| rt-PA | Rekombinantes t-PA | + | – | 4–5 |
| r-PA | Deletionsmutante | (+) | – | 18 |
| TNK | Punktmutante | ++ | + | 24 |

*HWZ* Halbwertszeit

den meisten Krankheitsbildern effektive alternative Therapieverfahren zur Verfügung, und die Therapie ist mit nicht unerheblichen Blutungskomplikationen verbunden. Aus diesem Grund wird im Folgenden die Indikation für verschiedene klinische Konstellationen im Sinne der evidenzbasierten Medizin orientierend an Ergebnissen großer klinischer Studien und den Empfehlungen der Fachgesellschaften dargestellt (siehe Übersicht).

**Indikationen für eine fibrinolytische Therapie**

- Systemische Applikation:
  - akuter Myokardinfarkt
  - Lungenembolie
  - zerbraler ischämischer Insult
  - bedingt bei kardiopulmonaler Reanimation
- lokale Applikation:
  - zerebraler ischämischer Insult
  - akuter arterieller Verschluss
  - Katheterokklusion
  - thrombotischer Verschluss arteriovenöser Shunts
  - Zentralarterienverschluss
  - Pfortaderthrombose

### 53.2.1 Akuter Myokardinfarkt

In über 90% der Fälle kann ein akuter Myokardinfarkt auf die Bildung eines intrakoronaren Thrombus zurückgeführt werden. Der von der betroffenen Koronararterie versorgte Myokardbezirk wird innerhalb weniger Stunden irreversibel geschädigt. Auf der Grundlage dieser Erkenntnisse wird seit Ende der 1970er-Jahre verstärkt versucht, durch rechtzeitige Auflösung des Thrombus das verschlossene Gefäß wieder zu eröffnen.

Ziel der Therapie ist es, das Infarktareal zu verkleinern, die Ventrikelfunktion zu erhalten und letztlich dadurch die Mortalität zu senken. Der Stellenwert der thrombolytischen Therapie in der Behandlung des akuten Myokardinfarkts kann heute als gesichert angesehen werden, wobei einem möglichst raschen Therapiebeginn besondere Bedeutung zukommt (Abb. 53.2; Boersma et al. 1998).

Zur Thrombolyse im Rahmen des ST-Hebungs-Infarkts gibt es zahlreiche Studien, die die einzelnen Substanzen im Vergleich zu Placebo, anderen Fibrinolytika oder interventionellen Verfahren untersucht haben. Des Weiteren wurden verschiedene Dosierungsschemata und die Begleitmedikation (ASS, GP-IIb-IIIa-Blocker, Heparin, Thrombininhibitoren) untersucht. Zusätzlich zu breit angelegten Mortalitätsstudien wurden angiographische Studien durchgeführt. Zur standardisierten Beurteilung des Revaskularisierungserfolgs wurde von der TIMI-Studiengruppe

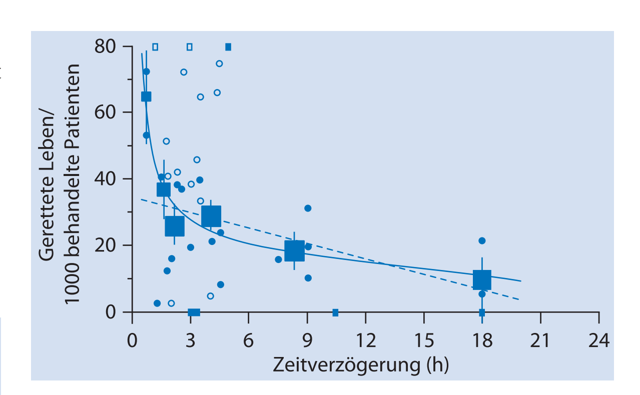



**Abb. 53.2.** Abhängigkeit des Therapieerfolgs einer Thrombolyse beim akuten ST-Hebungs-Infarkt von der frühzeitigen Applikation

(Thrombolysis in Myokardial Infarktion) eine Klassifikation eingeführt. Hierbei wird ein TIMI-3-Fluss als Ziel einer erfolgreichen Thrombolyse angestrebt (GUSTO-Investigators 1993; siehe Übersicht).

**TIMI-Klassifikation (NEJM 1985)**

- 0: verschlossenes Gefäß
- 1: geringe Penetration von Kontrastmittel ohne distale Perfusion
- 2: vollständige Perfusion des gesamten Gefäßes, aber mit verzögertem Fluss
- 3: normaler Fluss

Zunächst wurden in den 1980er-Jahren sehr breit angelegt placebokontrollierte Studien (z. B. GISSI-1 (GISSI 1986); ISIS-2 Investigators 1987) mit der damals verfügbaren Substanz Streptokinase durchgeführt. In diesen Studien bewährte sich das Konzept der Thrombolyse im Vergleich zur konservativen Therapie.

Ein Meilenstein war dann die GUSTO-I-Studie mit mehr als 40.000 Patienten. Hier etablierte sich das sogenannte Neuhaus-Schema mit »front loaded rt-PA« als Goldstandard gegenüber Streptokinase (The GUSTO-Investigators 1993). In der angiographischen Substudie, die immerhin 2.400 Patienten einschloss, zeigte sich, dass eine frühe Revaskularisation mit einem TIMI-3-Fluss nach 90 min einen deutlichen Überlebensvorteil erbringt. Die weiterentwickelten Substanzen r-PA und TNK versprachen durch veränderte pharmakologische Eigenschaften eine verbesserte Wirkung. Erste Studien mit diesen Substanzen für r-PA zeigten auch in der Tat eine verbesserte Effektivität (RAPID I und II: Smalling et al. 1995; Bode et al. 1996).

Weitere Studien ergaben dann aber im Wesentlichen eine Gleichwertigkeit für die neueren Substanzen r-PA (GUSTO III: Topol et al. 2000) und TNK (ASSENT I und

II) im Vergleich zu rt-PA (van de Werf et al. 1999). Eine bessere Effektivität zeigte sich für die neueren Substanzen bei später Applikation (Symptombeginn >6 h). In den aktuellen Leitlinien der deutschen Gesellschaft für Kardiologie von 2004 wird aus diesem Grund keiner der aktuell zugelassenen Substanzen der Vorzug gegeben. Die amerikanischen Leitlinien empfehlen jedoch speziell bei Patienten mit Symptombeginn <6 h die Applikation von rt-PA oder TNK (Evidenzgrad 1A), da hier mit einem verbesserten Therapieerfolg zu rechnen ist.

Die interventionelle Revaskularisation hat in den letzten Jahren aufgrund technischer Verbesserungen und Optimierung der antithrombotischen Begleitmedikation einen enormen Fortschritt erlebt. Verschiedene randomisierte Studien und Metaanalysen haben gezeigt, dass die PTCA (perkutane transluminale Koronarangioplastie) die Thrombolyse bezüglich Therapieerfolg, Nebenwirkungen und letztendlich Mortalität eindeutig überholt hat (Dalby et al. 2003; Weaver et al. 1997; Keeley et al. 2003).

Allerdings ist z. B. in Deutschland die Möglichkeit einer Akutintervention durch einen erfahrenen Untersucher nur in 20% der Krankenhäuser gegeben (Hamm 2004). In anderen Ländern ist der Prozentsatz eher geringer. Hier ist ein großer Zeitverlust durch Transporte zu vermeiden. Die Leitlinien der deutschen, europäischen und amerikanischen Gesellschaften für Kardiologie erlauben einen maximalen Nettozeitverlust von 90 min zugunsten einer PTCA im Vergleich zur Thrombolyse. Weitere Einsatzmöglichkeiten der Thrombolyse im Rahmen des akuten Infarkts sind die sogenannte »facilitated PTCA«, die »rescue-PTCA« und die prästationäre Lyse.

Bei der »facilitated PTCA« (erleichterte PTCA) sollte das Ergebnis einer geplanten PTCA durch eine zuvor verabreichte Lyse verbessert werden. Die ASSENT-4-Studie zeigte jedoch, dass diese Therapiestrategie mit einer erhöhten Komplikationsrate verbunden ist und somit nicht empfohlen werden kann (ASSENT-4 Investigators 2006).

Nach einer erfolglosen Lyse ist die Verlegung in ein Interventionszentrum zur »rescue-PTCA« (Rettungs-PTCA) sicher eine sinnvolle Option, auch wenn die Studienlage hier noch nicht ausreichend ist. Die aktuellen deutschen Leitlinien empfehlen diese Maßnahme im Fall von persistierenden ST-Hebungen, Beschwerden oder hämodynamischer Verschlechterung 90 min nach Therapiebeginn mit einer Empfehlungsstärke (Evidenz) von I bei allerdings noch recht niedrigem Evidenzgrad (C; Ellis 2000).

Die prästationäre Lyse durch den Notarzt bietet die Möglichkeit eines deutlichen Zeitgewinns (im Durchschnitt 60 min) und hat einen deutlichen Vorteil bewiesen, sodass diese Option eindeutig empfohlen werden kann (Evidenz IB; European Myocardial Infarction Project Group 1993; Rawles 2003).

**! Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass der Zeitfaktor der wesentlichste Vorteil der Thrombolyse ist und eine frühe Thrombolyse einer verzögerten Intervention vorzuziehen bzw. vorzuschalten ist.**

## Begleitmedikation

Eine Inhibition der plasmatischen und thrombozytären Gerinnung erscheint als Begleitmedikation sinnvoll, um eine Reokklusion durch prothrombotische Substanzen auf der Thrombusoberfläche und aktivierte Thrombozyten zu verhindern. Gleichzeitig ist jedoch potenziell eine Verstärkung der Blutungskomplikationen zu befürchten. Auch

**Tab. 53.2.** Einsatz von Fibrinolytika beim akuten ST-Hebungs-Infarkt (Hamm 2004)

| Substanz | Dosierung | Begleitende Heparintherapie |
|---|---|---|
| Streptokinase | – 1,5 Mio. IU über 30–60 min | Keine Initialgabe |
| Anistreplase (APSAC) | – 30 E in 5 min i.v. | Heparin nach 12–24 |
| t-PA (Alteplase; z. B. Actilyse®) | – 15 mg i.v. als Bolus<br>– 0,75 mg/kgKG über 30 min<br>– dann 0,5 mg/kgkG über 60 min i.v.<br>– Gesamtdosis ≤100 mg | APTT-gesteuert (Ziel 1,5- bis 2-fache Verlängerung) |
| r-PA (Reteplase; z. B. Rapilysin®) | – 2-mal 10 U i.v. als Bolus im Abstand von 30 min | APTT-gesteuert (Ziel 1,5- bis 2-fache Verlängerung) |
| TNK (Tenecteplase; z. B. Metalyse®) | – i.v. als Bolus:<br>– <60 kgKG: 30 mg<br>– 60 bis <70 kgKG: 35 mg<br>– 70 bis <80 kgKG: 40 mg<br>– 80 bis <90 kgKG: 45 mg<br>– >90 kgKG: 50 mg | APTT-gesteuert (Ziel 1,5- bis 2-fache Verlängerung) |

**Tab. 53.3.** Stufenempfehlung der DGK für die Therapie des akuten Herzinfarkts mit ST-Hebungen bei Schmerzbeginn <12 h (Hamm 2004)

| Rang | Maßnahme | Evidenzgrad |
|---|---|---|
| 1 | Primäre PCI innerhalb 2 h (»contact-to-balloon«)* | IA |
| 2 | Prästationäre Lyse mit anschließender Verbringung ins Krankenhaus mit PCI | IB |
| 3 | Prästationäre Lyse und Verbringung ins Krankenhaus ohne PCI | IA |
| 4 | Stationäre Lyse | IA |

* Zeitverlust durch Verlegung in ein Interventionszentrum <90 min; *PCI* perkutane koronare Intervention

hier ermöglicht eine Analyse der Studienlage einen evidenzbasierten Einsatz.

### Thrombozytenaggregationsinhibition

Der Nutzen einer Thrombozytenaggregationsinhibition beim akuten Infarkt ist unumstritten. Wie z. B. die ISIS-2-Studie zeigte, führt ASS insbesondere nach Fibrinolysetherapie zu einer Redukton der Sterblichkeit (ISIS-2 Investigators 1997; Antithrombotic Trialists Collaboration 2002) und wird somit als Begleittherapie von der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie empfohlen (Evidenzgrad IA).

Nachdem eine ADP-Blockade in der interventionellen Kardiologie drastische Fortschritte erbracht hatte, bestand die Hoffnung, dass eine Begleitmedikation mit Clopidogrel eine weitere Verbesserung des Lyseerfolgs bewirken könnte. Die CLARITY-Studie zeigte tatsächlich eine verbesserte Offenheitsrate durch die Gabe von Clopidogrel (Scirica et al. 2006). Jedoch konnte keine Verbesserung der Mortalität erzielt werden. Die amerikanischen Leitlinien empfehlen den Einsatz von Clopidogrel lediglich bei Patienten mit ASS-Allergie (Evidenzgrad 2C).

Ebenso konnte eine begleitende GP-IIb-IIIa-Blockade keinen ausreichenden Benefit zeigen. Da es gleichzeitig durch die Therapie zu einer erhöhten Blutungsneigung kam, wird die Kombination mit GP-IIb-IIIa-Blockern derzeit nicht empfohlen (ASSENT-3-Investigators 2001; Brener et al. 2002).

### Heparin

Eine Thrombolyse mit rt-PA, r-PA oder TNK sollte mit einer effektiven intravenösen Heparintherapie gekoppelt werden (Evidenzgrad 1C; American College of Chest Physicians [ACCP]). Eine intravenöse Heparinisierung bei Streptokinasetherapie ist wegen der antikoagulatorisch wirkenden Fibrinogenspaltprodukte in den ersten Stunden verzichtbar und würde wahrscheinlich das Blutungsrisiko erhöhen.

Enoxaparin zeigte in der ASSENT-3-Plus-Studie eine verbesserte Effizienz bei allerdings vermehrter Neigung zu intrakraniellen Blutungen (ASSENT-3-Investigators 2001). Aus diesem Grund wird von der ACCP nur eine Grad-2B-Empfehlung für Enoxaparin bei Patienten unter 75 Jahren mit guter Nierenfunktion gegeben. Mittlerweile hat jedoch die EXTRACT-TIMI-25-Studie (Antmann et al. 2006) eine deutliche Verbesserung des Therapieerfolgs durch Enoxaparin gezeigt: Mortalität und Infarktrezidiv konnten insgesamt um 17% reduziert werden. Es zeigte sich zwar auch bei dieser eine erhöhte Blutungsneigung in der LMWH-Gruppe (LMWH = »low molecular weight heparin«), diese war jedoch geringer als in den früheren Studien, und es blieb ein deutlicher »Nettogewinn« bezüglich der Mortalität. Diese neuen Ergebnisse legen den Einsatz von Enoxiparin bei Patienten mit überschaubarem Blutungsrisiko und guter Nierenfunktion nahe (Antmann et al. 2006).

**Begleittherapie der Thrombolyse nach den Leitlinien der ACCP 2004 (Menon et al. 2004)**

- ASS: bei allen Patienten (1A)
- Clopidogrel: bei Patienten mit ASS-Allergie (2C)
- GP-IIb-IIIa-Inhibitoren: nicht empfohlen (1B)
- LMW-Heparin (Enoxaparin):
  - Kombination mit TNK (2B*; Patienten <75 Jahre mit guter Nierenfunktion)
- Bivalirudin:
  - kein Routineeinsatz (2A)
  - Kombination mit Streptokinase bei HIT (heparininduzierte Thrombozytopenie; 2A)

* Neuere Ergebnisse zeigen eine Überlegenheit gegenüber UFH-Heparin (Antmann et al. 2006)

## 53.2.2 Lungenembolie

Eine Thrombolyse sollte bei Patienten mit hohem Mortalitätsrisiko erfolgen, also bei Schock oder Herz-Kreislauf-Stillstand (▶ Kap. 31.4). Bei Patienten mit echokardiographischen Zeichen der Rechtsherzbelastung und keinen Anzeichen eines Schocks wird die Thrombolyse kontrovers diskutiert. Aktuell sind für die Therapie der Lungenembolie Streptokinase, Urokinase oder rt-PA zugelassen. Keine dieser Subtanzen konnte eine signifikante Überlegenheit zeigen. Von Streptokinase ist jedoch aufgrund der Gefahr des Blutdruckabfalls abzuraten (Harris u. Meek 2005; Segal et al. 2007). Die Dosierungsempfehlungen sind in Tab. 53.4 aufgeführt. Begleitend zur Thrombolyse wird in der Regel eine APTT-gesteuerte Antikoagulation mit unfraktioniertem Heparin appliziert.

**Tab. 53.4.** Einsatz von Fibrinolytika bei der Lungenembolie

| Substanz/Handelsname | Dosierung | Begleitende Heparintherapie |
|---|---|---|
| rt-PA (Alteplase; z. B. Actilyse®) | – 10 mg i.v.-Bolus, dann<br>– 90 mg über 120 min i.v.<br>– Gesamtdosis ≤1,5 mg/kgKG | APTT-gesteuert (Ziel 1,5- bis 2-fache Verlängerung) |
| Urokinase | – i.v.-Bolus 2.000 IE/kgKG über 10–20 min, dann<br>– 2.000 IE/kgKG/h über 24 h | |



### 53.2.3 Kardiopulmonale Reanimation

Die Prognose von Patienten, die einen Herz-Kreislauf-Stillstand erleiden und einer Reanimation bedürfen, ist in der Regel äußerst schlecht. In 50–70% der Fälle liegt einer solchen Situation ein Myokardinfarkt oder eine Lungenembolie zugrunde (Silfvast 1991). Dementsprechend erscheint eine thrombolytische Therapie sinnvoll. Dem steht ein erhöhtes Blutungsrisiko gegenüber, das durch teilweise traumatische Reanimationsmanöver und potenzielle zerebrale Schäden befürchtet werden muss.

In einer Pilotstudie mit 90 Patienten konnte gezeigt werden, dass durch die Applikation eines Einzelbolus rt-PA (50 mg) bei primär erfolgloser Reanimation eine deutliche Verbesserung des Überlebens erzielt werden konnte (Bottiger et al. 2001). Die Folgestudie (TROICA) musste jedoch aufgrund einer erhöhten Sterblichkeit in der Thrombolyse abgebrochen werden (Spoor et al. 2005). Eine thrombolytische Therapie im Rahmen der CPR (kardiopulmonale Reanimation) kann also nur in Einzelfällen als Ultima Ratio oder bei spezifischem Verdacht auf eine fulminante Lungenembolie sinnvoll sein.

### 53.2.4 Zerebraler ischämischer Insult

Vor Beginn der Therapie muss möglichst schnell eine differenzialdiagnostisch infrage kommende intrakranielle Blutung ausgeschlossen werden. Auch bei ischämischen Insulten besteht die Gefahr einer sekundären zerebralen Einblutung. Aus diesem Grund ist hier eine besonders engmaschige Überwachung erforderlich. Für die thrombolytische Therapie des zerebralen ischämischen Insults stehen 2 Verfahren zur Verfügung (Adams et al. 2007).

#### Intravenöse systemische Thrombolyse

Die amerikanische Food and Drug Administration (FDA) erteilte 1996 die Zulassung für rt-PA zur intravenösen Lyse des Schlaganfalls. Diese basierte auf den Ergebnissen der NINDS rt-PA Stroke Study, in der 624 Patienten mit ischämischem Schlaganfall innerhalb von 3 h mit Placebo oder rt-PA (0,9 mg/kgKG i.v., maximal 90 mg) behandelt wurden. Günstige Ergebnisse (vollständige neurologische Erholung oder signifikante Verbesserung) wurden in 50% der mit rt-PA behandelten Patienten versus 38% in der Placebogruppe erreicht (NINDS-Study Group 1995).

Die aktuellen Leitlinien der amerikanischen Schlaganfallgesellschaft (Adams et al. 2007) geben eine Klasse-IA-Empfehlung für das oben genannte Applikationsschema von rt-PA bei Patienten, die innerhalb von 3 h nach Symptombeginn eines ischämischen Schlaganfalls behandelt werden können und keine Kontraindikationen aufweisen. Dieses Zeitfenster stellt in Anbetracht der Notwendigkeit einer vorangehenden Bildgebung eine große Herausforderung an die behandelnden Zentren dar.

Andere Thrombolytika sind nicht zugelassen. Eine Studie mit Streptokinase wurde aufgrund hoher Blutungsraten abgebrochen, und für andere Substanzen liegen keine ausreichenden Daten vor.

#### Intraarterielle Thrombolyse

Der intraarterielle Ansatz bietet den Vorteil der Applikation des Thrombolytikums in hoher Konzentration. Auch hier ist aktuell rt-PA die bevorzugt eingesetzte Substanz. Es konnten durch lokale Applikation deutlich höhere Rekanalisationsraten erreicht werden (Qureshi 2004). Demgegenüber stehen Verzögerungen im Behandlungsbeginn aufgrund der aufwendigen Technik. Diese Therapieoption steht nur in Zentren mit einem erfahrenen Neuroradiologen zur Verfügung.

Die Applikation der intraarteriellen Lyse erhält eine Klasse-IB-Empfehlung in den Richtlinien der amerikanischen Schlaganfallgesellschaft, wenn sie innerhalb von 6 h nach Symptombeginn appliziert wird, ein erfahrener Untersucher zur Verfügung steht und die A. cerebri media betroffen ist.

#### Begleittherapie

Aufgrund der oben erwähnten Einblutungsgefahr sind die Empfehlungen bezüglich der Begleitmedikation deutlich zurückhaltender als beim Myokardinfarkt. Die Applikation von ASS und Heparin wird frühestens 24 h nach der Thrombolyse empfohlen. GP-IIb-IIIa-Blocker werden bisher nicht empfohlen.

### 53.2.5 Akuter arterieller Verschluss

Wie auch beim zerebralen Insult hat sich der therapeutische Einsatz eindeutig zu den lokalen Lyseformen, kombiniert mit interventionellen Verfahren, verschoben (Giannini u. Balbarini 2004). Dotter und Mitarbeiter beschrieben 1974 erstmals den Erfolg einer niedrig dosierten Streptokinasebehandlung bei lokaler Anwendung. Unterschieden wird hierbei zwischen einer intraarteriellen Infusionslyse und einer Infiltrationslyse.

Bei der intraarteriellen Infusionslyse wird der Katheter vor das okkludierte Gefäßsegment geführt und nach erfolgreicher Lyse die dem thrombotischen Verschluss zugrunde liegende atherosklerotische Läsion in der Regel in einer zweiten Sitzung beseitigt. Im Gegensatz dazu wird bei der Infiltrationslyse der Katheter unter Röntgenkontrolle bis in den obturierenden Thrombus oder Embolus eingebracht und mit der lytischen Substanz infiltriert. Demaskiert sich eine zugrunde liegende Stenose, wird diese in gleicher Sitzung behandelt.

Durch das direkte Einbringen des Lytikums in den Thrombus wird eine hohe lokale Konzentration des Medikaments erreicht, wodurch bei kürzeren Interventionszeiten eine höhere Lyserate bei geringerem Verbrauch an Substanz und niedrigerer Komplikationsrate resultiert. Es werden Streptokinase, Urokinase und rt-PA verwendet. Von den meisten Anwendern wird Urokinase gegenüber Streptokinase wegen der fehlenden Antigenität und tendenziell höheren Wiedereröffnungsrate bevorzugt.

Die Dosierungen der verschiedenen Fibrinolytika variierten sehr stark, je nach Erfahrung und Geduld des Therapeuten. Die Erfolgsrate der Kombination von lokaler Lyse und PTA (perkutane transluminale Angioplastie) in einer Sitzung liegt zwischen 45 und 86%.

**Cave**

Bei der lokalen Lysetherapie gelten die gleichen Kontraindikationen wie bei der systemischen Lyse. Auch wenn diese Form der Lyse diminutiv als lokal bezeichnet wird, ist sie dennoch mit einer Rate an tödlichen Komplikationen in Höhe von etwa 1% belastet.

In Abhängigkeit von der Ursache des peripheren Gefäßverschlusses erfolgt die Nachbehandlung nach lokaler Lyse. Bei kardialen Emboliequellen oder dilatierender Form der Arteriosklerose wird in der Regel lebenslang oral antikoaguliert. Bei den anderen Embolieformen ist nach Ausschaltung der Ursache, z. B. Popliteaaneurysma, eine spezielle Nachbehandlung nicht erforderlich. Bei thrombotischen Verschlüssen auf dem Boden atherosklerotischer Wandveränderungen kann die Gabe von oralen Antikoagulanzien wie auch von Thrombozytenfunktionshemmern vertreten werden, wobei die Mehrheit der Anwender zumindest eine kurzfristige Cumarinbehandlung wählt. Größere, kontrollierte Studien liegen jedoch nicht vor.

## 53.3 Kontraindikationen, Komplikationen und Nebenwirkungen

Die Kontraindikationen gegen eine thrombolytische Therapie ergeben sich im Wesentlichen aus der Gefahr einer Blutung. Nutzen und Risiko müssen je nach Gesamtsituation individuell abgewogen werden (siehe Übersicht).

**Kontraindikationen einer thrombolytischen Therapie**

- **Absolute Kontraindikationen:**
  - Zustand nach intrakranieller Blutung
  - strukturelle zerebrale vaskuläre Läsionen
  - intrakranielle Neoplasie
  - ischämischer Schlaganfall in den letzten 3 Monaten *außer* ischämischer Schlaganfall in den letzten 3 h
  - Verdacht auf Aortendissektion
  - aktive lebensbedrohliche Blutung
  - Schädel-Hirn-Trauma oder Gesichtsverletzung in den letzten 3 Monaten
- **relative Kontraindikationen:**
  - chronische schwere und schlecht eingestellte Hypertonie Blutdruckwerte über 180/110 mmHg bei der Vorstellung
  - länger als 3 Monate zurückliegender ischämischer Schlaganfall
  - traumatische oder prolongierte Reanimation (>10 min)
  - größere chirurgische Eingriffe in den letzten 3 Wochen
  - nicht komprimierbare arterielle Punktionen
  - Schwangerschaft
  - aktives gastrointestinales Ulkus
  - Einnahme von Vitamin-K-Antagonisten
  - für Streptokinase/APSAC: vorherige Therapie mit diesen Substanzen

Wenn die klinische Situation es zulässt, sollte vor der Einleitung einer fibrinolytischen Therapie der Gerinnungsstatus (Quick, APTT, Fibrinogen, Thrombozyten) überprüft werden. Vor einer geplanten Thrombolyse sollten intramuskuläre Injektionen auf jeden Fall unterlassen werden. Auch bei älteren intramuskulären Injektionsstellen kann es zu schweren Muskeleinblutungen kommen. Hier sollte eine

engmaschige klinische Kontrolle und ggf. die Anlage von Kompressionsverbänden erfolgen.

Bei thrombolytisch behandelten Patienten sollte die Anlage von Blasenkathetern, Magensonden, arteriellen Kathetern oder zentralvenösen Kathetern falls möglich verschoben werden. Sollte eine Gefäßpunktion unvermeidbar sein, sind gut komprimierbare Stellen (Leisten, Handgelenke) zu bevorzugen.

Insbesondere unter Streptokinase kommt es zu einer generalisierten Fibrinolyse und zum Fibrinogenverbrauch. Es fallen antikoagulatorisch wirksame Fibrinspaltprodukte an. Hier sind engmaschige Kontrollen von Fibrinogen, Thrombinzeit und APTT sinnvoll.

Sollte es unter fibrinolytischer Therapie zu einer schweren lebensbedrohlichen Blutung kommen, so können Protamin (unter Heparintherapie), Frischplasmen und Thrombozytenkonzentrate zur Gerinnungsstabilisierung gegeben werden. Bei Fibrinogenverlust sollte in dieser Situation auch Fibrinogen substituiert werden. Zusätzlich ist die Gabe von Tranexamsäure in einer Dosierung von 100 mg/kgKG pro Stunde über einen Zeitraum von 2 h sinnvoll.



**! Neben der Blutungsneigung kommt es wie oben erwähnt insbesondere bei Therapie mit Streptokinase oder APSAC zu allergischen Reaktionen, Hypotonie, Angioödem mit Atemwegsobstruktion bis hin zum anaphylaktischen Schock. Seltener treten allergische Reaktionen bei den neueren Thrombolytika auf.**

## 53.4 Neuartige Therapieansätze

Da bei konventionellen Therapieansätzen eine verbesserte thrombusauflösende Wirkung immer mit einer vermehrten Blutungsneigung einhergeht, ist das Hauptziel von Weiterentwicklungen eine Anreicherung der Wirksubstanz im Bereich des Thrombus.

### 53.4.1 Lokale Applikation im Rahmen der PTCA

Eine lokale Applikation von Thrombolytika im Bereich der Koronarien konnte sich bisher im Vergleich zu den mittlerweile ausgefeilten Interventionsverfahren nicht durchsetzten. Ein neuer Ansatz ist eine kombinierte lokale Lyse im Rahmen einer PTCA und Stentimplantation. Die Rationale, die dahinter steht, ist die Auflösung von Mikroemboli und die Verbesserung der Mikrozirkulation.

In einer Pilotstudie konnte durch dieses Konzept tatsächlich eine signifikante Verbesserung der postinterventionellen Mikrozirkulation gezeigt werden, allerdings ohne signifikante Verbesserung der linksventrikulären Pumpfunktion und Mortalität nach 6 Monaten. Grund hierfür könnte das kleine Patientenkollektiv (n=41) sein, sodass größer angelegte Studien erforderlich sind, um diesen Therapieansatz zu überprüfen (Sezer 2007).

### 53.4.2 Antikörpervermittelte Thrombolyse

Die antikörpervermittelte Thrombolyse bietet grundsätzlich neue Möglichkeiten zur Erhöhung der Effektivität und Spezifität der thrombolytischen Therapie. Monoklonale Antikörper dienen hierbei als »Schleppermoleküle«, die ein chemisch oder gentechnologisch angekoppeltes Enzym am Wirkort anreichern. Seit Veröffentlichung des ersten Berichts konnten mehrere Plasminogenaktivatoren synthetisiert werden, die in vitro und in vivo eine wesentlich gesteigerte thrombolytische Aktivität bei außergewöhnlicher Spezifität aufweisen. Antifibrinantikörper wurden zunächst chemisch an Urokinase gekoppelt. Diese Moleküle waren in vitro bis zu 250-mal stärker fibrinolytisch wirksam als native Urokinase (Ruef 1999; Runge 1996).

Außerdem gelang eine rekombinante Herstellung als Einzelkettenantikörper in Bakterien (Hagemeyer 2004). In einem weiteren Schritt wurde der Antikörperteil des Fusionsmoleküls nicht nur als »Schlepper« sondern auch als Wirkkomponente eingesetzt. Der Antikörper 7E3, der an den Thrombozytenrezeptor GP-IIb-IIIa bindet und so die Plättchenaggregation inhibiert, wurde mit dem Ziel an Urokinase gekoppelt, ein Thrombolytikum speziell für die besonders resistenten, thrombozytenreichen arteriellen Thromben zu entwickeln (Bode et al. 1991). Außerdem könnte ein solches Thrombolytikum aufgrund der gleichzeitigen Thrombozytenaggregationshemmung zu einer niedrigen Reokklusionsrate beitragen. Das Konjugat zeigte sich in vitro ungekoppelter Urokinase um ein Vielfaches überlegen (bis zu 90-fach) und verstärkte die Inhibition der Thrombozytenaggregation.

### Literatur


Adams HP Jr, del Zoppo G et al. (2007) Guidelines for the early management of adults with ischemic stroke: a guideline from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council, Clinical Cardiology Council, Cardiovascular Radiology and Intervention Council, and the Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease and Quality of Care Outcomes in Research Interdisciplinary Working Groups: The American Academy of Neurology affirms the value of this guideline as an educational tool for neurologists. Circulation 115(20): e478–534

Albers GW, Amarenco P et al. (2004) Antithrombotic and thrombolytic therapy for ischemic stroke: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. Chest 126(3 Suppl): 483S–512S

Antithrombotic Trialists' Collaboration (2002) Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of

death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. BMJ 324(7329): 71–86

Antman EM, Morrow DA et al.; ExTACT-TIMI 25 Investigators (2006) Enoxaparin versus unfractionated heparin with fibrinolysis for ST-elevation myocardial infarction. N Engl J Med 354(14): 1477–88

Antman EM, Anbe DT et al. (2004) ACC/AHA guidelines for the management of patients with ST-elevation myocardial infarction; A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to Revise the 1999 Guidelines for the Management of patients with acute myocardial infarction). J Am Coll Cardiol 44(3): E1–E211

ASSENT-3-investigators (Assessment of the Safety and Efficacy of a New Thrombolytic Regimen) (2001) Efficacy and safety of tenecteplase in combination with enoxaparin, abciximab, or unfractionated heparin: the ASSENT-3 randomised trial in acute myocardial infarction. Lancet 358(9282): 605–13

ASSENT-4-PCI-investigators (Assessment of the Safety and Efficacy of a New Treatment Strategy with Percutaneous Coronary Intervention) (2006) Primary versus tenecteplase-facilitated percutaneous coronary intervention in patients with ST-segment elevation acute myocardial infarction (ASSENT-4 PCI): randomised trial. Lancet 367(9510): 569–78

Bode CR, Smalling W et al. (1996) Randomized comparison of coronary thrombolysis achieved with double-bolus reteplase (recombinant plasminogen activator) and front-loaded, accelerated alteplase (recombinant tissue plasminogen activator) in patients with acute myocardial infarction. The RAPID II Investigators. Circulation 94(5): 891–8

Boersma E, Steyerberg EW et al. (1998) Reperfusion therapy for acute myocardial infarction. Which strategy for which patient? Drugs 56(1): 31–48

Bottiger BW, Bode C et al. (2001) Efficacy and safety of thrombolytic therapy after initially unsuccessful cardiopulmonary resuscitation: a prospective clinical trial. Lancet 357(9268): 1583–5

Brener SJ, Zeymer U et al. (2002) Eptifibatide and low-dose tissue plasminogen activator in acute myocardial infarction: the integrilin and low-dose thrombolysis in acute myocardial infarction (INTRO AMI) trial. J Am Coll Cardiol 39(3): 377–86

Dalby M, Bouzamondo A et al. (2003) Transfer for primary angioplasty versus immediate thrombolysis in acute myocardial infarction: a meta-analysis. Circulation 108(15): 1809–14

Dunn CJ, Goa KL (2001) Tenecteplase: a review of its pharmacology and therapeutic efficacy in patients with acute myocardial infarction. Am J Cardiovasc Drugs 1(1): 51–66

Ellis SG, Da Silva ER et al. (2000) Review of immediate angioplasty after fibrinolytic therapy for acute myocardial infarction: insights from the RESCUE I, RESCUE II, and other contemporary clinical experiences. Am Heart J 139(6): 1046–53

European Myocardial Infarction Project Group (1993) Prehospital thrombolytic therapy in patients with suspected acute myocardial infarction. N Engl J Med 329(6): 383–9

European Society of Cardiology (2000) Guidelines on diagnosis and management of acute pulmonary embolism. Task Force on Pulmonary Embolism. Eur Heart J 21(16): 1301–36

Giannini D, Balbarini A (2004) Thrombolytic therapy in peripheral arterial disease. Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Disord 4(3): 249–58

GISSI (Gruppo Italiano per lo Studio della Streptochinasi nell'Infarto Miocardico) (1986). Effectiveness of intravenous thrombolytic treatment in acute myocardial infarction. Lancet 1(8478): 397–402

GUSTO investigators (1993) An international randomized trial comparing four thrombolytic strategies for acute myocardial infarction. N Engl J Med 329(10): 673–82

Hagemeyer CE, Tomic I et al (2004) Construction and characterization of a recombinant plasminogen activator composed of an anti-fibrin single-chain antibody and low-molecular-weight urokinase. J Thromb Haemost 2(5): 797–803

Hamm CW (2004) Guidelines: Acute coronary syndrome (ACS). II: Acute coronary syndrome with ST-elevation. Z Kardiol 93(4): 324–41

Harris T, Meek S (2005) When should we thrombolyse patients with pulmonary embolism? A systematic review of the literature. Emerg Med J 22(11): 766–71

ISIS-2 Investigators (1987) Intravenous streptokinase given within 0–4 hours of onset of myocardial infarction reduced mortality in ISIS-2. Lancet 1(8531): 502Jerjes-Sanchez C, Ramirez-Rivera A, de Lourdes Garcia M et al. (1995) Streptokinase and heparin versus heparin alone in massive pulmonary embolism: a randomized controlled trial. J Thromb Thrombolysis 2: 227–279

Keeley EC, Boura JA et al. (2003) Primary angioplasty versus intravenous thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: a quantitative review of 23 randomised trials. Lancet 361(9351): 13–20

Konstantinides S, Geibel A, Heusel G et al. (2002) Heparin plus alteplase compared with heparin alone in patients with submassive pulmonary embolism. N Engl J Med 347: 1143–1150

Levine M, Hirsh J, Weitz J et al. (1990) A randomised trial of a single bolus dosage regimen of recombinant tissue plasminogen activator in patients with acute pulmonary embolism. Chest 98: 1473–1479

Menon VR, Harrington A et al. (2004). Thrombolysis and adjunctive therapy in acute myocardial infarction: the Seventh ACCP Conference on Anithrombotic and Thrombolytic Therapy. Chest 126(3 Suppl): 549S-575S

Moser M, Nordt T et al. (1999) Platelet function during and after thrombolytic therapy for acute myocardial infarction with reteplase, alteplase, or streptokinase. Circulation 100(18): 1858–64

NINDS (The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke) Study Group (1995) Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. N Engl J Med 333(24): 1581–7

Qureshi AI, Boulos AS et al. (2004) Randomized comparison of intra-arterial and intravenous thrombolysis in a canine model of acute basilar artery thrombosis. Neuroradiology 46(12): 988–95

Rawles J (2003) GREAT: 10 year survival of patients with suspected acute myocardial infarction in a randomised comparison of prehospital and hospital thrombolysis. Heart 89(5): 563–4

Ross AM, Coyne KS et al. (1999) A randomized trial comparing primary angioplasty with a strategy of short-acting thrombolysis and immediate planned rescue angioplasty in acute myocardial infarction: the PACT trial. PACT investigators. Plasminogen-activator Angioplasty Compatibility Trial. J Am Coll Cardiol 34(7): 1954–62

Ruef J, Nordt TK (1999) A bispecific antifibrin-antiplatelet urokinase conjugate (BAAUC) induces enhanced clot lysis and inhibits platelet aggregation. Thromb Haemost 82(1): 109–14

Runge MS, Harker LA (1996) Enhanced thrombolytic and antithrombotic potency of a fibrin-targeted plasminogen activator in baboons. Circulation 94(6): 1412–22

Scirica BM, Sabatine MS et al. (2006) The role of clopidogrel in early and sustained arterial patency after fibrinolysis for ST-segment elevation myocardial infarction: the ECG CLARITY-TIMI 28 Study. J Am Coll Cardiol 48(1): 37–42

Segal JB, Streiff MB et al. (2007) Management of venous thromboembolism: a systematic review for a practice guideline. Ann Intern Med 146(3): 211–22

Sezer M, Oflaz H et al. (2007) Intracoronary streptokinase after primary percutaneous coronary intervention. N Engl J Med 356(18): 1823–34

Silfvast T (1991) Cause of death in unsuccessful prehospital resuscitation. J Intern Med 229(4): 331–5

Smalling RW, Bode C et al. (1995) More rapid, complete, and stable coronary thrombolysis with bolus administration of reteplase compared with alteplase infusion in acute myocardial infarction. RAPID Investigators. Circulation 91(11): 2725–32

Spohr F, Arntz HR et al. (2005) International multicentre trial protocol to assess the efficacy and safety of tenecteplase during cardiopulmonary resuscitation in patients with out-of-hospital cardiac arrest: the Thrombolysis in Cardiac Arrest (TROICA) Study. Eur J Clin Invest 35(5): 315–23

TIMI Study Group (1985) The Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) trial. Phase I findings. N Engl J Med 312(14): 932–6

Topol EJ, Ohman EM et al. (2000) Survival outcomes 1 year after reperfusion therapy with either alteplase or reteplase for acute myocardial infarction: results from the Global Utilization of Streptokinase and t-PA for Occluded Coronary Arteries (GUSTO) III Trial. Circulation 102(15): 1761–5

Van De Werf F, Adgey J et al. (1999) Single-bolus tenecteplase compared with front-loaded alteplase in acute myocardial infarction: the ASSENT-2 double-blind randomised trial. Lancet 354(9180): 716–22

Weaver WD, Simes RJ et al. (1997) Comparison of primary coronary angioplasty and intravenous thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: a quantitative review. Jama 278(23): 2093–8

Wooster MB, Luzier AB (1999) Reteplase: a new thrombolytic for the treatment of acute myocardial infarction. Ann Pharmacother 33(3): 318–24

# 50 Hämostyptika

## 50.1 DDAVP

*J. Koscielny*



Desmopressin (DDAVP) wurde 1966 als Abkömmling des antidiuretischen Hypophysenhormons Arginin-Vasopressin synthetisch hergestellt. Zu den antidiuretischen Indikationen zählen Diabetes insipidus und Enuresis nocturna, zudem wird es in Tests zur Bestimmung der Nierenkonzentrationsfähigkeit verwendet.

Die ersten Berichte, die sich mit der Wirkung von DDAVP auf die Hämostase befassen, wurden Mitte der 1970er-Jahre veröffentlicht. Mannucci und Mitarbeiter wiesen schon 1977 nach, dass Blutungen während operativer Eingriffe bei Patienten mit leichter bis mittelschwerer Hämophilie A oder Von-Willebrand-Erkrankung durch Gabe von DDAVP reduziert werden können. In den letzten 30 Jahren wurde die hämostyptische Wirkung von DDAVP in zahlreichen weiteren Indikationen bestätigt.

Die Wirkung wird mit einer Freisetzung des Von-Willebrand-Faktors aus den Endothelzellen, dem unspezifischen plättchenstimulierenden Effekt (Steigerung der Thrombozytenadhäsion und -aggregation) und einer Monozytenaktivierung erklärt. Aus klinischer Sicht ist DDAVP entsprechend seines Nebenwirkungsprofils als ein sicheres und bewährtes blutstillendes Medikament einzustufen.

### 50.1.1 Substanzklasse und Präparate

Desmopressin ist ein synthetisch hergestellter Abkömmling des natürlich vorkommenden menschlichen Hypophysenhormons Arginin-Vasopressin (AVP). Desmopressin (DDAVP=Desamino-D-Arginin-Vasopressin) unterscheidet sich vom Vasopressin dadurch, dass die Aminogruppe im Cystein fehlt (Desamino-AVP) und L-Arginin durch D-Arginin ersetzt wurde. Durch Desaminierung des N-terminalen Rests konnte die antidiuretische Wirkung deutlich erhöht werden und D-Arginin (8-D-AVP) führt zu einer stark verminderten pressorischen Wirkung. Der vollständige Name von Desmopressin lautet: Desamino-1-Cystein-8-D-Arginin-Vasopressin. Die relative Molekularmasse beträgt 1069,1.

> **Als einsetzbare Präparate sind derzeit in Deutschland kommerziell verfügbar: Minirin parenteral® als i.v.-Medikament und Octostim®-Dosierspray (Nasenspray).**

### 50.1.2 Wirkmechanismus

DDAVP wirkt als selektiver Agonist des Vasopressinrezeptors vom Typ 2 ($V_2R$). Ein hämostaseaktivierender Effekt ist bei verändertem $V_2$-Rezeptor, wie z. B. bei Diabetes insipidus, nicht erkennbar. DDAVP aktiviert über einen cAMP-abhängigen Signaltransduktionsweg $V_2R$-positive Endothelzellen. Derart aktivierte Endothelzellen sezernieren hochmolekulare Von-Willebrand-Multimere aus den Weibel-Palade-Bodies, sodass es nach DDAVP-Applikation zu einem schnellen Anstieg der vWF-Plasmaspiegel kommt.

Der zu beobachtende parallele Faktor-VIII-Anstieg wird als indirekter Anstieg über mehr Faktor-VIII-Bindungsstellen nach vWF-Anstieg bzw. durch einen DDAVP-induzierten Schutz vor einem proteolytischen Abbau des Faktor VIII erklärt. Eine direkte Faktor-VIII-Ausschüttung wurde bisher noch nicht nachgewiesen (Kaufmann et al. 2003). Die Reaktion auf die intravenöse Gabe von Desmopressin ist eine rasche, durchschnittliche Verdreifachung der FVIII- und vWF-Werte (De La Fuente et al. 1985; Mannucci 1988; Schulman 1991).

Neben Endothelzellen sind auch Thrombozyten und Monozyten DDAVP-Zielzellen. Durchflusszytometrische Untersuchungen belegen, dass Desmopressin vorgeschädigte Thrombozyten »aktivieren« kann. Dies geschieht über eine vermehrte Expression des Adhäsionsproteins GP (Glykoprotein) Ib und der Integrine (Lethagen u. Nilsson 1992; Sloand et al. 1994; Sakariassen et al. 1995; Balduini et al. 1999). GP Ib ist v. a. für die Anheftung des Thrombozyten an der beschädigten Gefäßoberfläche verantwortlich. Auch lässt sich ein intrazellulärer Anstieg des thrombozytären Serotoninspiegels und der HMWK-Konzentration nachweisen (HMWK = »high molecular weight kininogen«). Offensichtlich setzt der Effekt des DDAVP eine Restpopulation noch funktionstüchtiger Thrombozyten voraus.

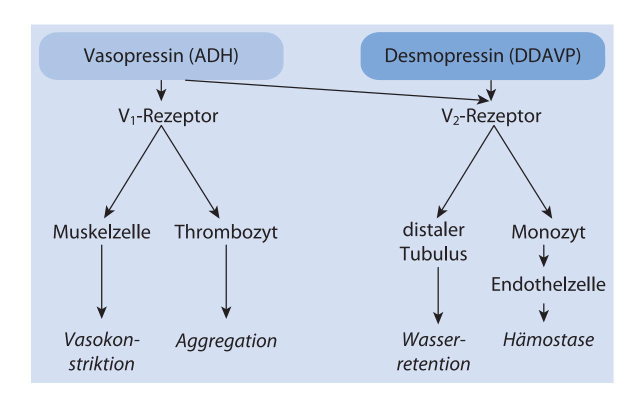



**Abb. 50.1.** Wirkungen von Vasopressin (ADH) und Desmopressin (DDAVP)

Des Weiteren kann DDAVP die Expression von Tissue Factor (TF) indirekt induzieren. Als Folge der vWF-Freisetzung wird P-Selektin, das Membranbestandteil der vWF-Speicherorganellen ist, in die Endothelzellmembran integriert (Kanwar et al. 1995; Pereira et al. 2003). P-Selektin ist ein wichtiger Adhäsionsrezeptor für Monozyten und Thrombozyten. Daher kommt es als Folge der DDAVP-induzierten Freisetzung von P-Selektin zu einer Adhäsion von Monozyten, die wiederum durch gleichzeitig freigesetzte inflammatorische Zytokine zur TF-Synthese stimuliert werden. Die nach DDAVP-Gabe beobachtete Abnahme der Monozytenzahlen ist durch Adhäsion von Monozyten an Endothelzellen zu erklären.

Als weiteren wichtigen Effekt auf die Hämostase setzt DDAVP das zum vWF benachbarte t-PA (Gewebeplasminogenaktivator) aus den Endothelzellen frei. Dies führt zu einer geringfügigen Aktivierung der Fibrinolyse, die durch eine schnelle Inaktivierung von Plasmin durch Antiplasmin gebremst wird (Emeiss et al. 1997). Daher kann z. B. bei einer Blutung eine parallele Gabe von Tranexamsäure zur DDAVP-Applikation sinnvoll sein.

### 50.1.3 Indikationen

Bedingt durch die Freisetzung von vWF (Von-Willebrand-Faktor) und indirekt von FVIII (Faktor VIII) kann Desmopressin bei den angeborenen Formen der milden Hämophilie A zur Anwendung kommen. Entscheidend für die Wirksamkeit ist das Vorliegen einer Faktor-VIII-Aktivität (FVIII:c) von >5%. Bei der erworbenen Hemmkörperhämophilie A liegen in vielen Fällen sehr hohe Antikörpertiter mit nicht messbarem FVIII:c vor. Dies erklärt den fehlenden Therapieerfolg mit DDAVP.

Während der Einsatz von DDAVP bei der kongenitalen Von-Willebrand-Erkrankung (vWE) Typ 1 (quantitative Abnahme des vWF) unumstritten ist, sind Therapieerfolge bei den angeborenen Formen der vWE Typ 2A (Vorliegen eines qualitativ minderwertigen vWF) möglich, bei vWE Typ 2B (Bildung eines abnormen vWF mit spontaner Bindung an GP 1b der Thrombozytenoberfläche) gelegentlich möglich und bei vWE Typ 3 (fehlende Synthese von vWF) nicht zu erwarten (Franchini 2007). Bei Patienten mit vWE sollte die basale vWF:Rco-(Ristocetin-Kofaktor-)Aktivität deutlich über 10% liegen. Inwieweit DDAVP bei erworbener vWE wirksam ist, ist von der zugrunde liegenden Ursache (Grunderkrankung) abhängig.

Mit Ausnahme der Thrombasthenie Glanzmann ist bei den angeborenen Thrombozytenfunktionsstörungen zumeist mit einem sehr guten Effekt von DDAVP auszugehen. Mit einer guten blutstillenden Wirkung von DDAVP ist bei Urämie, Hepatopathien, Amyloidosen und medikamenteninduzierten Thrombozytenfunktionsstörungen wie durch Acetylsalicylsäure, NSAR, Ticlopidin, partiell bei Clopidogrel, Dextranen und Hydroxyethylstärke auszugehen. In Analogie zum fehlenden Effekt bei der Thrombasthenie Glanzmann ist nur ein begrenzter blutstillender Effekt bei durch GP-IIb-IIIa-Inhibitoren (Abciximab, Tirofiban) erworbenen Thrombozytenfunktionsstörungen zu erwarten.

Während der prophylaktische Einsatz von DDAVP bei komplikationslosen Operationen und ohne vorbestehende Hämostasestörung nicht gerechtfertigt erscheint (Carless et al. 2006), mehren sich die Hinweise, dass unter speziellen perioperativen Bedingungen DDAVP den Blutverlust reduzieren und somit den Fremdblutbedarf vermindern kann (Despotis 1999; Koscielny et al. 2004, 2006; Carless et al. 2006; Franchini 2007). Dies gilt für Patienten mit medikamenteninduzierten Thrombozytenfunktionsstörungen (Acetylsalicylsäure, NSAR, Ticlopidin, Clopidogrel u. ä.), v. a. bei nicht elektiven Eingriffen, bei kardiochirurgischen Eingriffen mit langer Bypass-Zeit und großem intraoperativen Blutverlust sowie bei Patienten mit Urämie und Leberinsuffizienz. Zusätzlich gibt es bereits Hinweise, dass DDAVP bei unklaren intraoperativen Blutungen in vielen Fällen eine blutstillende Wirkung zeigt.

**Erfolgreiche Anwendungen von DDAVP mit Erstbeschreibung**

- **Angeborene plasmatische Hämostasestörungen:**
  - Hämophilie A und Subhämophilie A (>5% Restaktivität; Mannucci et al. 1977)
  - Faktor-VIII-Inhibitor (niedrigtitrig; Kesteven et al. 1984)
  - Faktor-XI-Mangel (Schulman 1991)
  - Afibrinogenämie (De Marco et al. 1986)

▼

- **angeborene kombinierte Hämostasestörungen:**
  - Von-Willebrand-Erkrankung (Typ 1, 2A, 2M, 2N; Theiss u. Sauer 1977; Mannucci 2004)
  - erworbene Von-Willebrand-Erkrankung (Budde et al. 1984)
  - Marfan-Syndrom (Franchini 2007)
- **angeborene primäre Hämostasestörungen:**
  - Bernard-Soulier-Syndrom (von Blohn et al. 1986)
  - Gray-Platelet-Syndrom (Pfueller et al. 1987)
  - Storage-Pool-Erkrankung (Mannucci 1986)
  - »isolated prolongation of bleeding time« (Kobrinsky et al. 1984)
  - Thrombozytensekretionsstörungen (Kobrinsky et al. 1984)
  - Glykogenose Typ 1a (Gierke-Krankheit) (Marti et al. 1986)
- **komplexe, erworbene Hämostasestörungen:**
  - urämische Blutungsneigung (Watson u. Keogh 1982; Mannucci et al. 1983)
  - Leberzirrhose (Burroughs et al. 1985)
  - Blutungsneigung nach Herz-Lungen-Maschine (Salzman et al. 1986; Despotis 1999)
- **medikamentös induzierte Hämostasestörungen:**
  - Acetylsalicylsäure (Mannucci 1986)
  - Ticlopidin (Mannucci 1986)
  - Dextran (Lethagen 1992)
  - Diclofenac, Ibuprofen, Piroxicam (Koscielny et al. 1995)
  - Hydroxyethylstärke (Lazarchick u. Conroy 1995)
  - Streptokinase (Johnstone et al. 1990)
  - Hirudin (Ibbotson et al. 1991)

## 50.1.4 Dosierung und Applikation

Da die Erhöhung des Faktors in einem konkreten Fall schwer vorauszusagen ist, sollte die Reaktion auf DDAVP bei Patienten mit bekannten Blutgerinnungsstörungen vor einer geplanten Operation getestet werden. Verschiedene Untersuchungen weisen darauf hin, dass die individuelle Response von einer Anwendung zur nächsten konstant bleibt (De La Fuente et al. 1985; Rodeghiero 1989). Daher gibt die Reaktion auf einen DDAVP-Stimulationstest für eventuelle künftige Blutungen oder Prophylaxemaßnahmen wertvolle Informationen. Die in klinisch-pharmakologischen Studien ermittelte optimale Desmopressindosis beträgt 0,3 µg/kgKG bei i.v.-Applikation (Schulman u. Johnsson 1991). Sowohl die intravenöse als auch die subkutane Gabe von DDAVP unterscheiden sich nicht signifikant hinsichtlich der Pharmakokinetik. Die maximale Plasmakonzentration erreicht nach etwa 1 h ihren Höhepunkt und nimmt dann linear ab. Die Plasmahalbwertzeit liegt zwischen 3,2 und 3,6 h.

Für das Spray liegt die optimale Dosis bei 2 Sprühstößen mit zusammen 300 µg Desmopressin intranasal. In Relation zur intravenösen Verabreichung beträgt die Bioverfügbarkeit 3–5%. Bei Kindern von 4–12 Jahren sollte die Dosis auf einen Sprühstoß reduziert werden. Bei der intranasalen Anwendung können Veränderungen oder Erkrankungen der Nasenschleimhaut, wie z. B. Narben oder Ödeme (z. B. bei allergischer Rhinitis oder Infektion der oberen Atemwege), zu einer veränderten Resorption führen. In diesen Fällen sollte DDAVP intranasal nicht angewendet werden.

Maximale Konzentrationen von Faktor VIII treten 30–50 min nach der intravenösen Injektion auf (70–80 min nach subkutaner Injektion), während es 60–120 min dauert, bis ein maximaler Anstieg beim Von-Willebrand-Faktor erreicht ist. In der Folge kommt es zu einem allmählichen Abfall auf die ursprünglichen Werte, der etwa 6 h dauert (Manucci et al. 1976). Bei intranasaler Applikation dauert es 60–90 min, bis maximale Konzentrationen von Faktor VIII und etwas zeitverzögert des Von-Willebrand-Faktors vorliegen. Die Anfangsdosis bei intranasaler DDAVP-Gabe kann in Abständen von 8–12 h wiederholt werden (Schulman u. Johnsson 1991). Bei einigen Patienten wird die Reaktion nach erneuten Applikationen schwächer oder bleibt ganz aus (Tachyphylaxie). In diesen Fällen kommt es nach 3–4 Tagen Anwendungspause wieder zu einer adäquaten Reaktion auf die DDAVP-Gabe.

**Dosierungen und Anwendung von DDAVP als Antihämorrhagikum**

- i.v.-Gabe:
  - 0,3–0,4 µg/kgKG (5 Ampullen bei 70 kg: ca. ¾ Ampulle pro 10 kgKG) i.v. als Kurzinfusion: 15–30 min in 50 ml isotonischer NaCl-Lösung
  - Anwendung präoperativ 30 min vor dem Eingriff
  - Anwendung bei peri- oder postoperativ festgestellter Blutung sofort
  - Folgedosen alle 8–12 h, in der Regel 3–4 Dosen über 2–7 Tage maximal anwendbar
- intranasales Dosierspray:
  - 1 h präoperativ 2 Sprühstöße für Erwachsene, 1 Sprühstoß für Kinder (4–12 Jahre)
  - Anwendung bei peri- oder postoperativ festgestellter Blutung sofort
  - Folgedosen alle 8–12 h, in der Regel 3–4 Dosen über maximal 3 Tage

Gleichzeitige Gabe weiterer gerinnungsrelevanter Medikamente (z. B. Antifibrinolytika, Gerinnungsfaktorenkonzentrate) kann erforderlich sein! Bei mehrfacher Gabe: Wirkungsverlust (Tachyphylaxie)! Flüssigkeitsbilanz beachten (Natriumspiegel)!

### 50.1.5 Monitoring

Der DDAVP-Einsatz zeigt bei vWE Typ 1 und bei den meisten medikamenteninduzierten Thrombozytenfunktionsstörungen, z. B. durch Acetylsalicylsäure, einen laboranalytischen Response von 80–90%, der auch mit einer Blutstillung einhergeht (Mannucci 1994; Koscielny et al. 2004; Franchini 2007). Bei den anderen mit DDAVP therapierbaren Hämostasestörungen (angeborene Thrombozytenfunktionsstörungen, weitere Subtypen der vWE, komplexe Hämostasestörungen) liegt der laboranalytische Response teilweise darunter oder ist vergleichbar. Dieser Response ist grundsätzlich in einem DDAVP-Stimulationstest individuell zu überprüfen. Die Veränderungen lassen sich über die In-vivo-Blutungszeit, die In-vitro-Verschlusszeiten mit dem PFA-100®, der Faktor-VIII-Aktivität, der vWF-Aktivitäten und der APTT (aktivierte partielle Thromboplastinzeit) orientierend messen.

Zudem sollte die Thrombozytenzahl als Sicherheitsgröße bestimmt werden, wenn bei Patienten mit vWE eine genaue Subtypenklassifizierung, z. B. über eine Multimeranalyse, noch nicht vorliegt. Eine DDAVP-Gabe kann bei vWE Typ 2B zu einer passageren Thrombopenie führen. Diese Patienten sollten dann zukünftig kein DDAVP mehr erhalten.

DDAVP vermag die endogen vorhandene Faktor-VIII-Aktivität (FVIII:c) und die vWF-Aktivität (vWF:Rco und vWF:Ag) um das 2,5- bis 6-fache zu steigern, die APTT zu verkürzen sowie die In-vivo-Blutungszeit, die In-vitro-Verschlusszeiten mit dem PFA-100® und Faktor-VIII-vWF-sowie Kollagen-vWF-Bindungsaktivitäten zu normalisieren (siehe Übersicht). In der Regel sind laboranalytische Kontrollen vor und ca. 60 min nach Applikation von DDAVP ausreichend. Bei Patienten mit vWE sollte beim ersten DDAVP-Stimulationstest auch noch 4 h nach DDAVP-Gabe eine laboranalytische Kontrolle erfolgen, da bei einigen Subtypen der vWE, z. B. Typ 2A oder 2M, bereits frühzeitig die vWF-Aktivitäten abklingen und damit eine reduzierte Wirkdauer vorliegen kann.

**Messgrößen beim DDAVP-Monitoring und die zu erwartende Veränderung**

- Plasmatische Messgrößen:
  - FVIII:c (Faktor-VIII-Aktivität) ↑↑
  - vWF:Rco (Ristocetin-Kofaktor) ↑↑
  - vWF:Ag (Von-Willebrand-Faktor-Antigen) ↑↑
  - APTT ↓
- thrombozytäre Messgrößen:
  - PFA-100: Epinephrin/Kollagen ↓↓
  - PFA-100: ADP/Kollagen ↓
  - In-vivo-Blutungszeit ↓
- Sicherheitsgrößen:
  - Thrombozytenzahl
  - Natriumspiegel im Serum (bei mehrfacher Anwendung)
- spezielle Messgrößen (bei Patienten mit vWE):
  - vWF:Kollagen BA (Von-Willebrand-Faktor:Kollagen-bindende Aktivität) ↑
  - vWF:Faktor VIII BA (Von-Willebrand-Faktor:Faktor VIII-bindende Aktivität) ↑
  - RIPA (ristocetininduzierte Thrombozytenaggregation) ↑

### 50.1.6 Nebenwirkungen

DDAVP hat wenige, zu meist nur leichte Nebenwirkungen (Balduini et al. 1999). Bei zu schneller Infusion kann es zu Kopfschmerzen, Flush und Blutdrucksenkung mit reflektorischem leichten Anstieg der Pulsfrequenz kommen. Wenn die Infusionsgeschwindigkeit verringert wird, werden diese Nebenwirkungen in der Regel schwächer. Wie bei anderen Peptiden sind in Einzelfällen Überempfindlichkeitsreaktionen (z. B. Juckreiz, Exanthem, Fieber, Bronchospasmus, Anaphylaxie) möglich. Einige Patienten klagen über vorübergehende Magen-Darm-Beschwerden.

DDAVP darf aufgrund der in einigen Fällen beobachteten Blutdruckerhöhung nur mit Vorsicht bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit oder Hypertonie angewendet werden. Bei der Anwendung von DDAVP wurden in seltenen Fällen thromboembolische Komplikationen (Thrombosen, akuter Hirn- oder Myokardinfarkt) bei Patienten mit erhöhter Thromboseneigung beobachtet. Nach ersten Berichten über 3 Myokardinfarkte bei Patienten, die mit DDAVP behandelt worden waren, wurde Ende der 1980-Jahre eine mögliche prothrombotische Wirkung in Betracht gezogen. Daraufhin wurde eine umfangreiche Studie 1989 mit dem Ergebnis durchgeführt, dass DDAVP das Thromboserisiko nicht signifikant erhöht (10 Thrombosefälle auf 430.000 Patienten, die mit DDAVP intravenös behandelt worden waren; Mannucci et al. 1994). Obwohl nicht feststeht, inwieweit ein kausaler Zusammenhang zwischen der Verabreichung von DDAVP und diesen Ereignissen bestand, wird empfohlen, DDAVP bei erhöhter Thromboseneigung nur mit Vorsicht einzusetzen (Carless et al. 2006; Franchini 2007).

Besonders nach übermäßiger Flüssigkeitsaufnahme kann es zu einer Wasserretention mit folgenden Begleit-

symptomen kommen: Gewichtszunahme, Hyponatriämie und in schweren Fällen Krämpfe, teilweise verbunden mit Bewusstseinseinschränkungen. In schweren Fällen kann eine Wasservergiftung (Serumosmolalität unter 285 mosm/kg, Plasmanatrium unter 135 mmol/l) mit Hirnödem, Erregungszuständen, zentralen Krämpfen und Bewusstseinstrübung bis hin zum Koma auftreten. Dies gilt besonders für Kleinkinder bis zu einem Jahr oder älteren Patienten, abhängig von ihrem Allgemeinzustand. In Einzelfällen ist unter der Behandlung mit der intranasalen Lösung über ein Hirnödem berichtet worden. Da keine therapeutischen Erfahrungen vorliegen und da insbesondere bei nicht kontrollierter Flüssigkeitszufuhr und wiederholter Anwendung die Gefahr einer Wasserintoxikation besteht, darf Octostim®-Dosierspray bei Säuglingen und Kindern unter 4 Jahren nicht angewendet werden. Um eine Wasserintoxikation zu vermeiden, sollte auf eine ausgewogene Wasserbilanz geachtet werden. DDAVP darf bei habitueller Polydipsie und bei krankhaft vermehrter Flüssigkeitsaufnahme, z. B. psychogener Polydipsie oder Polydipsie bei Alkoholikern, nicht angewendet werden.

Die Wasserretention ist bei Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion in der Regel ohne klinische Relevanz. DDAVP kann die Katecholaminwirkung beeinflussen. Im Falle einer Überdosierung sollte die Dosis reduziert bzw. die Häufigkeit der Verabreichung vermindert werden. Bei Hirnödem ist eine sofortige Einweisung zur Intensivtherapie notwendig, Krämpfe im Kindesalter bedürfen ebenfalls Intensivmaßnahmen. Es ist kein spezifisches Antidot gegen DDAVP bekannt. Sollte eine beträchtliche Flüssigkeitsretention beunruhigen, kann mit einem Saluretikum wie Furosemid eine Diurese herbeigeführt werden.

Bisherige klinische Erfahrungen mit der intranasalen Anwendung von DDAVP in der Schwangerschaft und Stillzeit ergaben keine Hinweise auf nachteilige Wirkungen für Mutter und Kind. DDAVP wird bei Frauen nur in sehr geringen Mengen in die Muttermilch ausgeschieden. DDAVP kann die Wirkung des zur Wehenstimulation eingesetzten Oxytocins verstärken. Peripartal sollte die intravenöse DDAVP-Gabe erst unmittelbar vor der Geburt erfolgen. Eine Richtgröße stellt die Öffnung des Muttermunds dar (Primapara: 8–10 cm, Multipara: 6–8 cm).

**! Bei älteren Patienten und Patienten mit fortgeschrittener Herzkrankheit und Niereninsuffizienz sollte DDAVP mit Vorsicht angewendet werden. Bei kleinen Kindern ist v. a. bei mehrmaliger Applikation Vorsicht geboten.**

## Literatur


Balduini CL, Noris P, Belletti S, Spedini P, Gamba G (1999) In vitro and in vivo effects of desmopressin on platelet function. Haematologica 84: 891–896

Burroughs AK, Matthews K, Qadiri M, Thomas N, Kernoff P, Tuddenham E, McIntyre N (1985) Desmopressin and bleeding time in patients with cirrhosis. Br Med J (Clin Res Ed) 291(6506): 1377–81

Budde U, Schaefer G, Mueller N, Egli H, Dent J, Ruggeri Z, Zimmerman T (1984) Acquired von Willebrand's disease in the myeloproliferative syndrome. Blood 64(5): 981–5

Carless PA, Henry DA, Moxey AJ, O'Connell D, McClelland B, Henderson KM, Sly K, Laupacis A, Fergusson D (2006) Desmopressin for minimising perioperative allogeneic blood transfusion (Review). Cochrane Library, Issue 3 1–40

De La Fuente B et al. (1985) Response of patients with mild and moderate hemophilia Aand von Willebrand disease to treatment with desmopressin. Ann Int Med 103: 6–14

De Marco L, Girolami A, Zimmerman TS, Ruggeri ZM (1986) von Willebrand factor interaction with the glycoprotein IIb/IIa complex. Its role in platelet function as demonstrated in patients with congenital afibrinogenemia. J Clin Invest 77(4): 1272–7

Despotis GJ et al. (1999) Use of point-of-care test in identification of patients who can benefit from desmopressin during cardiac surgery: a randomised controlled trial. Lancet 354(9173): 106–10

Emmeis JJ, van den Eijnden-Schrauwen Y, van den Hoogen CM, de Priester W, Westmuckett A, Lupu F (1997) An endothelial storage granule for tissue-type plasminogen activator. J Cell Biol 139: 245–56

Franchini M (2007) The use of desmopressin as a hemostatic agent: A concise review. Am J Hematol 82: 822–825

Franchini M, Giuseppe L, Veneri D (2006) Efficacy of desmopressin in preventing hemorrhagic complications in a patient with Marfan syndrome undergoing cardiac surgery Blood Coagul Fibrinolysis 17: 325–326

Ibbotson SH, Grant PJ, Kerry R, Findlay VS, Prentice CR (1991) The influence of infusions of 1-desamino-8-D-arginine vasopressin (DDAVP) in vivo on the anticoagulant effect of recombinant hirudin (CGP39393) in vitro. Thromb Haemost 65(1): 64–6

Johnstone MT, Andrews T, Ware JA, Rudd MA, George D, Weinstein M, Loscalzo J (1990) Bleeding time prolongation with streptokinase and its reduction with 1-desamino-8-D-arginine vasopressin. Circulation 82(6): 2142–51

Kanwar S, Woodman RC, Poon MC, Murohara T, Lefer AM, Davenpeck KL, Kubes P (1995) Desmopressin induces endothelial P-selectin expression and leukocyte rolling in postcapillary venules. Blood 86: 2760–2766

Kauffmann JE, Iezzi M, Vischer UM (2003) Desmopressin (DDAVP) induces NO production in human endothelial cells via $V_2$ receptor- and cAMP-mediating signalling. J Thromb Haemos 1: 821–828

Kesteven PJ, Holland LJ, Lawrie AS, Savidge GF (1984) Inhibitor to factor VIII in mild haemophilia. Thromb Haemost 52(1): 50–2

Kobrinsky NL et al. (1984) Shortening of bleeding time by 1-desamino-8-D-arginine vasopressin in various bleeding disorders. Lancet 1: 1145–1148

Koscielny J, Kiesewetter H, Tempelhoff GF (2006) Platelet Function Analyzer (PFA)-100® closure time in the evaluation of platelet disorders and platelet function. J Thromb Haemostasis 4: 1426–27

Koscielny J, Tempelhoff GF, Ziemer S, Radtke H, Schmutzler M, Sinha P, Salama A, Kiesewetter H, Latza R (2004) A Practical Concept for Preoperative Management in Patients with Impaired Primary Hemostasis. Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis 10: 155–166

Koscielny J, Blaicher AM, Felfernig D, Latza R, Wenzel E, Kiesewetter H (1998) Consensus use of desmopressin and antifibrinolytics in three university clinics. Anaesthesia 53: 60–62

Koscielny J, Radtke H, Ziemer S, Pindur G, Jung F, Kiesewetter H, Wenzel E (1995) Normalisierung der Thrombozytenfunktion durch Desmopressin. Präoperativer Einsatz bei durch Acetylsalicylsäure (ASS) und nichtsteroidale Analgetika induzierter Thrombozytopathie. Anästh Intensivmed 36: 205–210
Lazarchick J, Conroy JM (1995) The effect of 6% hydroxyethyl starch and desmopressin infusion on von Willebrand factor: ristocetin cofactor activity. Ann Clin Lab Sci 25(4): 306–9
Lethagen S, Nilsson IM (1992) DDAVP-induced enhancement of platelet retention: its dependence on platelet-von Willebrand factor and the platelet receptor GP IIb/IIIa. Eur J Haematol 42: 7–13
Lethagen S et al. (1990) Effects of desmopressin acetate (DDAVP) and dextran on hemostatic and thromboprophylactic mechanisms. Acta Chir Scand 156: 597–602
Mannucci PM (2004) Treatment of von Willebrand's Disease. N Engl J Med 351(7): 683–94
Mannucci PM, Carlsson S, Harris AS (1994) Desmopressin, surgery and thrombosis. Thromb Haemost 71: 154–155
Mannucci PM (1988) Desmopressin: a nontransfusional form of treatment for congenital and acquired bleeding disorders. Blood 72: 1449–1455
Mannucci PM (1986) Desmopressin (DDAVP) for treatment of disorders of hemostasis. Progr Hemost Thromb 8: 19–45
Mannucci PM et al. (1983) Deamino-8-D-arginine vasopressin shortens the bleeding time in uremia. N Eng J Med 308: 8–12
Mannucci PM et al. (1977) DDAVP: a new pharmacological approach to the management of hemophilia and von Willebrand disease. Lancet 1: 869–872
Mannucci PM et al. (1976) Studies on the prolonged bleeding time in von Willebrand disease. J Lab Clin Med 88: 662–671
Marti GE, Rick ME, Sidbury J, Gralnick HR (1986) DDAVP infusion in five patients with type Ia glycogen storage disease and associated correction of prolonged bleeding times. Blood 68(1): 180–4
Pereira A, del Valle Onorato M, Sanz C (2003) DDAVP enhances the ability of blood monocytes to form rosettes with activated platelets by increasing the expression of P-selectin sialylated ligands on the monocyte surface. Br J Haematol 120: 814–20
Pfueller SL, Howard MA, White JG, Menon C, Berry EW (1987) Shortening of bleeding time by 1-deamino-8-arginine vasopressin (DDAVP) in the absence of platelet von Willebrand factor in Gray platelet syndrome. Thromb Haemost 58(4): 1060–3
Rodeghiero F (1989) Consistency of responses to repeated DDAVP infusions in patients with von Willebrand disease and hemophilia A. Blood 74: 1997–2000
Sakariassen KS, Cattaneo M, Berg A, Ruggeri ZM, Mannucci PM, Sixma JJ (1995) DDAVP enhancesplatelet adherence and platelet microplates and enhanced procoagulant activity. Thromb Res 79: 163–174
Salzman EW, Weinstein MJ, Weintraub RM, et al. (1986) Treatment with desmopressin acetate to reduce blood loss after cardiac surgery: A double-blind randomized trial. N Engl J Med 314: 1402–1406
Schulman S (1991) DDAVP – The multipotent drug in patients with coagulopathies. Transfusion Med Rev 2: 132–144
Schulman S, Johnsson H (1991) Heparin, DDAVP and the bleeding time. Thromb Haemost 65: 242–244
Sloand EM, Alyono D, Klein HG (1994) 1-deamino-8-D-arginine vasopressin (DDAVP) increasesplatelet membrane expression of glycoprotein Ib in patients with disorders of platelet functionand after cardiopulmonary bypass. Am J Hematol 46: 199–207
Theiss W, Sauer E (1977) DDAVP: alternative to replacement treatment in mild haemophilia A and von Willebrand-Jurgens syndrome Dtsch Med Wochenschr 102(48): 1769–72
Von Blohn G, Kohler M, Hellstern P, Miyashita C, Wenzel E (1986) Comparative study of intranasal, subcutaneous and intravenous administration of desamino-D-arginine vasopressin (DDAVP). Thromb Haemost 55(1): 108–11
Watson AJ, Keogh JA (1982) Effect of 1-deamino-8-D-arginine vasopressin on the prolonged bleeding time in chronic renal failure. Nephron 32(1): 49–52

## 50.2 Antifibrinolytika

*C. Jámbor, C. F. Weber*




Antifibrinolytika werden zur Prophylaxe und Therapie der Hyperfibrinolyse eingesetzt. Ihre Wirksamkeit ist in klinischen Studien belegt. Antifibrinolytika hemmen entweder direkt die Plasminwirkung oder die Plasmingenerierung. Die synthetischen Antifibrinolytika Tranexamsäure und ε-Aminokapronsäure hemmen die Plasminbildung und können oral, intravenös und lokal appliziert werden. Nachdem der direkte Plasmininhibitor Aprotinin vom Markt genommen wurde, sind sie die einzigen für den klinischen Einsatz verfügbaren Antifibrinolytika.

### 50.2.1 Substanzklasse und Präparate

Antifibrinolytika hemmen bestimmte Schritte der Fibrinolyse. Indirekt wirksame Substanzen hemmen Enzyme, die Plasminogen in Plasmin umwandeln, direkt wirksame Substanzen blockieren das Plasmin selbst. Seit dem Ruhen der Zulassung von Aprotinin (Trasylol®) am 5.11.2007 steht in Deutschland aktuell nur eine Substanz zur Verfügung, die Tranexamsäure (Cyklokapron®, Ugurol®, Anvitoff®). ε-Aminokapronsäure (Amicar®) ist in Deutschland ebenfalls nicht auf dem Markt.

Die beiden Wirkstoffe, ε-Aminokapronsäure und Tranexamsäure (p-Aminomethylzyklohexancarbonsäure)

sind synthetische Analoga der Aminosäure Lysin. Beide Wirkstoffe sind von der chemischen Summenformel her identisch, wobei die Tranexamsäure die zyklische Form der ε-Aminokapronsäure darstellt. Aprotinin, ein basisches Polypeptid aus 58 Aminosäuren, ist ein aus Rinderlungen bzw. -pankreas extrahierter unspezifischer Serinproteaseinhibitor, der seine Wirkung durch die Bildung von reversiblen Enzyminhibitorkomplexen (z. B. mit Trypsin, Chymotrypsin, Plasmin, Kallikrein) entfaltet. Aktuelle Studien über die Wirksamkeit eines rekombinant hergestellten Aprotinins sind vielversprechend (Veres et al. 2007), eine Zulassung liegt allerdings noch nicht vor.



Im Vergleich zu Aprotinin liegen für die Lysinanaloga deutlich weniger randomisierte Studien über deren antifibrinolytische bzw. blutsparende Effektivität vor. In einer neueren Metaanalyse wird beschrieben, dass Aprotinin im Vergleich zur Tranexamsäure und ε-Aminokapronsäure den Blutverlust bei kardiochirurgischen Eingriffen signifikant reduziert, ein Unterschied in dem Ausmaß der notwendigen Bluttransfusionen und der Rethorakotomieraten konnte jedoch nicht gezeigt werden (Brown et al. 2007).

## 50.2.2 Wirkmechanismus

### Aprotinin

Aprotinin ist ein unspezifischer, kompetitiver Breitspektrum-Serinproteaseinhibitor und besitzt damit vielfältige Wirkungen. Es konnten neben antifibrinolytischen Eigenschaften auch antiinflammatorische, pro- und antikoagulatorische sowie thrombozytenschonende Effekte nachgewiesen werden.

#### Wirkungen

Aprotinin hemmt das Plasmin direkt durch reversible Komplexbildung. Dadurch wird die durch Plasmin vermittelte Spaltung des Fibrinmoleküls verhindert. Ein weiterer Effekt dieser Komplexbildung ist die Hemmung der durch Plasmin vermittelten Konversion von Prourokinase zu Urokinase. Aprotinin durchbricht auf diesem Weg eine aktive Fibrinolyse.

In hoher Dosierung entfaltet Aprotinin seinen antifibrinolytischen Effekt über weitere Mechanismen und besitzt auch eine antiinflammatorische Wirkung. Durch Komplexbildung mit Kallikrein verhindert Aprotinin die Bildung von Bradykinin und inhibiert damit die durch Bradykinin vermittelte Freisetzung von Gewebeplasminogenaktivator durch Endothelzellen (Khan et al. 1999). Eine weitere Folge der Komplexbildung mit Kallikrein ist eine Inhibierung der Freisetzung der fibrinolytisch hoch wirksamen neutrophilen Elastase (Wachtfogel et al. 1993). Die antiinflammatorische Wirkung des Aprotinins beruht auf der Hemmung von TNF-α, auf der verminderten Ausschüttung von IL-8, der vermehrten Freisetzung von IL-10 sowie der Hemmung des Komplementsystems (Hill et al. 1996) .

Die prokoagulatorische Wirkung des Aprotinins besteht in der Inhibition von aktiviertem Protein C und somit in der Verhinderung der Proteolyse und Inaktivierung der Faktoren Va und VIIIa. Des Weiteren hemmt Aprotinin die plasminvermittelte Aufspaltung des Von-Willebrand-Faktors (Paparella et al. 2004). Ein antikoagulatorischer Effekt ist die Inhibierung von Faktor XIIa und somit die Hemmung der Thrombinbildung über den intrinsischen Gerinnungsweg (Mojcik u. Levy 2001).

Dem Aprotinin wird auch ein thrombozytenschützender Effekt zugeschrieben. Das Medikament verhindert die Inaktivierung der GP-Ib-IX-Rezeptoren der Thrombozyten durch das Plasmin und vermindert ferner die Aktivierung der Thrombozyten durch das Thrombin (Cramer et al. 1991; Landis et al. 2001).

#### Pharmakokinetik

Nach intravenöser Applikation verteilt sich Aprotinin im Extrazellulärraum, was zu einem initialen Abfall der Plasmaaprotininkonzentration mit einer Halbwertszeit von 0,3–0,7 h führt. Weniger als 5% des Wirkstoffs werden unverändert renal ausgeschieden. Der Rest wird nach glomerulärer Filtration in den proximalen Tubuli aktiv reabsorbiert und dort in Phagolysosomen gespeichert, wo er durch lysosomale Enzyme abgebaut wird. Die Halbwertszeit der terminalen Eliminationsphase ist inkonstant und beträgt abhängig von der applizierten Dosis zwischen 150 min und 10 h.

### Tranexamsäure und ε-Aminokapronsäure

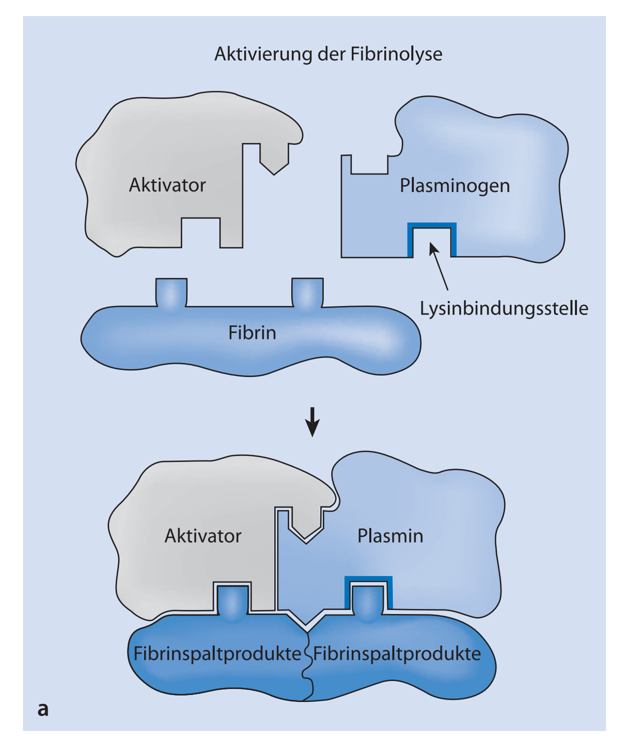
Tranexamsäure und ε-Aminokapronsäure hemmen das Andocken von Plasminogen an das Fibrinmolekül und dadurch die Plasminbildung. Die antifibrinolytische Wirksamkeit der Tranexamsäure ist etwa 10-mal stärker als die der ε-Aminokapronsäure.

#### Wirkungen

Die Umwandlung der inaktiven Vorstufe Plasminogen in das fibrinolytisch wirksame Plasmin durch t-PA wird nach Bindung des t-PA-Plasminogenkomplexes über die Lysinbindungsstellen des Plasminogens an den Lysinresten der Fibrinmoleküle 1000-fach beschleunigt (▣ Abb. 50.2a).

Somit wird die Plasminbildung direkt am Gerinnsel lokalisiert. Tranexamsäure und ε-Aminokapronsäure blockieren diese Lysinbindungsstellen am Plasminogen und verhindern damit dessen Konversion zu Plasmin und in der Folge die Spaltung des Fibrinmoleküls (▣ Abb. 50.2b; Mannucci 1998).

Ein weiterer Effekt der inhibierten Konversion von Plasminogen zu Plasmin ist eine Verhinderung der plasmininduzierten Spaltung der GP-Ib-IX-Rezeptoren der



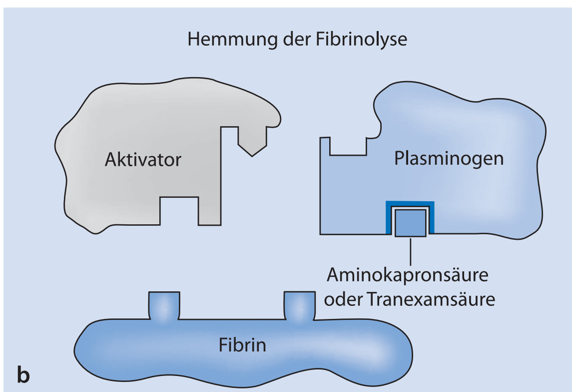




**Abb. 50.2a,b.** Fibrinolyse. **a** Aktivierung: Plasminogen bindet durch Lysinbindungsstellen an Lysinreste des Fibrinmoleküls. Dadurch wird seine Umwandlung zu Plasmin 1000-fach beschleunigt; **b** Hemmung: Tranexamsäure blockiert die Lysinbindungsstellen des Plasminogens und hemmt dadurch die Plasminbildung (aus Jambor, Görlinger 2007)

Thrombozyten (Quinton et al. 2004). Die protektive Wirkung der Lysinanaloga auf Thrombozyten ist im Vergleich zu Aprotinin geringer, weil hier hauptsächlich die fibringebundene Plasminbildung gehemmt wird.

### Pharmakokinetik

Tranexamsäure kann oral und intravenös appliziert werden. Die orale Bioverfügbarkeit beträgt 30–50%. Bei einer Plasmaproteinbindung von 3% (ausschließlich an Plasmin gebunden) ist das Medikament zu 100% plazentagängig. Die Halbwertszeit beträgt 2,3 h.

**! Tranexamsäure wird zu 95% renal ausgeschieden; eine Dosisanpassung bei Niereninsuffizienz wird empfohlen.**

ε-Aminokapronsäure wird zu 10% zu Adipinsäure verstoffwechselt und renal ausgeschieden; über 65% der ε-Aminokapronsäure werden unverändert renal eliminiert. Die Halbwertszeit beträgt 2 h.

## 50.2.3 Dosierung und Applikation

### Aprotinin

Aprotinin ist seit Ende 2007 nicht mehr als Antifibrinolytikum für den klinischen Einsatz zugelassen. Aus diesem Grund wird auf die Darstellung der unterschiedlichen Dosierungsschemata des Aprotinins verzichtet.

### Tranexamsäure

Es existieren keine eindeutigen Dosisempfehlungen für Tranexamsäure bei herzchirurgischen Eingriffen mit extrakorporaler Zirkulation. Wegen der raschen renalen Elimination wird die kontinuierliche Applikation nach Bolusgabe der einmaligen Bolusgabe von 50–100 mg/kgKG vorgezogen (Dowd et al. 2002). Häufig verwendete Dosierungsschemata sind:

- 10–15 mg/kgKG über 30 min nach Narkoseeinleitung, 1 mg/kgKG in das Priming-Volumen der HLM und 6,5 mg/kgKG pro Stunde kontinuierlich über 10 h im Anschluss an die Bolusgabe
- 3-mal 2 g nach der Narkoseeinleitung, in das Primingvolumen der HLM, am Ende der Bypass-Phase
- 10 mg/kgKG über 30 min nach Narkoseeinleitung und 1 mg/kgKG pro Stunde während der Operation
- therapeutische intravenöse Gabe bei Blutung aufgrund einer Hyperfibrinolyse: 1–2 g i.v.
- orale Applikation bei der Therapie und Prophylaxe von Blutungen infolge gesteigerter lokaler Fibrinolyse (Prostatektomie, rezidivierende gastrointestinale Blutungen, Colitis ulcerosa, essenzielle oder IUP-induzierte Hypermenorrhoe, Epistaxis, Zahnextraktion bei Patienten mit Koagulopathien): 2- bis 3-mal täglich 1,0–1,5 g p.o.

### ε-Aminokapronsäure

- 10 g (oder 150 mg/kgKG) als Bolus i.v., gefolgt von 2 g/h (oder 15 mg/kgKG/h) während des kardiopulmonalen Bypasses

Die Gabe eines Antifibrinolytikums muss in ein therapeutisches Gesamtkonzept der Therapie der Koagulopathie einbezogen werden.

**Im Rahmen der Hyperfibrinolyse kann es häufig zu einem starken Verbrauch des Fibrinogens bis hin zur vollständigen Defibrinierung des Patienten kommen. Dieser Fibrinogenmangel muss dann nach Durchbrechen der Hyperfibrinolyse entsprechend ausgeglichen werden.**

## 50.2.4 Nebenwirkungen

### Tranexamsäure und ε-Aminokapronsäure

Unter der Therapie mit Tranexamsäure und ε-Aminokapronsäure sind allergische Reaktionen beobachtet worden (Lucas-Polomeni et al. 2004), sowohl systemisch als auch in Form von Hautausschlägen. Insbesondere bei Patienten mit angeborener oder erworbener Thrombophilie kann Tranexamsäure zu vermehrten Thrombosen führen. Bei Blutungen im Harntrakt kann bei der Anwendung von Tranexamsäure eine Verstopfung der Harnleiter mit nachfolgendem Urinaufstau entstehen. Selten können Sehstörungen und gastrointestinale Nebenwirkungen wie Übelkeit, Erbrechen und Diarrhoe vorkommen.

### Aprotinin

Das BfArM hat für das Aprotinin am 5.11.2007 mit sofortiger Wirkung das Ruhen der Zulassung angeordnet. In den viel diskutierten Studien von Mangano (2006) und Karkouti (2006) wurden bei Patienten, die im Rahmen von herzchirurgischen Eingriffen prophylaktisch mit Aprotinin behandelt wurden, im Vergleich zu Tranexamsäure oder ε-Aminokapronsäure eine erhöhte Inzidenz an Nierenversagen, kardiovaskulären und zerebrovaskulären Ereignissen aufgezeigt.

Zunächst wurde im Oktober 2007 ein Stufenplanverfahren zur Neubewertung des Nutzen-Schaden-Verhältnisses von Aprotinin durchgeführt. Eine Reanalyse der Studien durch das FDA konnte die negativen Effekte auf die Nierenfunktion bestätigen, wohingegen negative Auswirkungen auf zerebrovaskuläre und kardiovaskuläre Ereignisse sowie auf die Krankenhaussterblichkeit nicht signifikant demonstriert werden konnten.

Die vorläufigen Ergebnisse der unabhängig von pharmazeutischen Unternehmen durchgeführten, vom kanadischen Gesundheitsministerium geförderten, randomisierten, kontrollierten, multizentrischen BART-Studie führten letztlich zum Ruhen der Zulassung. In dieser Studie wurde Aprotinin gegen Tranexamsäure und ε-Aminokapronsäure hinsichtlich der Reduzierung von massiven Blutungen, dem Bedarf an Bluttransfusionen sowie der Inzidenz von Komplikationen an ca. 2.700 herzchirurgischen Hochrisikopatienten untersucht. Ende Oktober 2007 wurde die Studie vorzeitig beendet. Der primäre Endpunkt, eine Reduktion des absoluten Risikos für das Auftreten massiver postoperativer Blutungen um 3% und für die Notwendigkeit von Bluttransfusionen um 10% bei der Behandlung mit Aprotinin gegenüber den Vergleichsgruppen wurde bei einer geplanten Zwischenauswertung bereits erreicht. Gleichzeitig war die 30-Tage-Sterblichkeitsrate der mit Aprotinin behandelten Patientengruppe (6%) im Vergleich zu Patienten, die mit Tranexamsäure (3,9%) oder mit Aminokapronsäure (4%) behandelt wurden, nicht signifikant erhöht. Diese Ergebnisse führten zu der vorzeitigen Beendigung der BART-Studie (Fergusson et al. 2008). In der Folge wurde Aprotinin die Zulassung als Antifibrinolytikum entzogen.

## 50.2.5 Indikationen

Es gibt eine ganze Reihe von Krankheitsbildern, bei denen mit der Entwicklung einer Hyperfibrinolyse gerechnet werden muss (siehe Übersicht). Über die genaue Inzidenz einer Hyperfibrinolyse bei diesen Krankheitsbildern liegen bisher keine genauen Daten vor.

**Zur Hyperfibrinolyse prädisponierende Erkrankungen und Situationen**

- Kardiochirurgie (Einsatz der extrakorporalen Zirkulation)
- Lebertransplantation (Xia u. Steadman 2005)
- Operationen an der Lunge, Pankreas und an den Nebennieren
- tumorassoziierte Hyperfibrinolyse (Ovarial-, Prostata-, Pankreaskarzinom, kolorektale Tumoren und Promyelozytenleukämie; Oudijk et al. 2000)
- Verbrauchskoagulopathie (DIC)
- Hypothermie und Hyperthermie
- medikamentös induzierte Hyperfibrinolyse (z. B. nach DDAVP), aktiviertes Protein C
- Polytrauma (Schoechl 2006)
- fulminantes Leberversagen (Colucci et al. 2003)
- Prostata- oder Blasenresektionen
- peripartale Blutungen (Uterus, Plazenta; Pfanner u. Kilgert 2006)
- vorhergehende »lokale« Lysetherapie
- Kreislaufstillstand und Reanimation
- erworbener $\alpha_2$-Antiplasmin-Mangel (bei Transfusion großer SD-Plasma-Mengen)

### 50.2.6 Operative Medizin

#### Prophylaxe

#### Kardiochirurgie

Beim Einsatz der extrakorporalen Zirkulation kommt es zu einer Aktivierung der Fibrinolyse durch verschiedene Mechanismen:

- Kontaktaktivierung durch den Fremdoberflächenkontakt,
- inflammatorische Reaktion auf die EKZ.

Zur prophylaktischen Anwendung von Antifibrinolytika ist die Datenlage insoweit eindeutig, als dass die Antifibrinolytika Aprotinin, Tranexamsäure und ε-Aminokapronsäure den Blutverlust, den Fremdblutbedarf und die Rethorakotomierate bei herzchirurgischen Eingriffen mit extrakorporaler Zirkulation (EKZ) senken (Laupacis u. Fergusson 1997; Henry et al. 2001). Nachdem in Deutschland kein Alternativpräparat zu Tranexamsäure zur Verfügung steht, wird die antifibrinolytische Prophylaxe bei allen kardiochirurgischen Eingriffen mit Tranexamsäure durchgeführt. Die verabreichte Dosis variiert stark, weil es keine evidenzbasierte Empfehlungen gibt. Bei Patienten mit schwerer Niereninsuffizienz sollte eine Dosisreduktion vorgenommen werden.

#### Lebertransplantation

Patienten zur Lebertransplantation haben eine sehr komplexe Pathologie, was Gerinnungsstörungen betrifft. Meistens weisen diese Patienten einen profibrinolytischen Status auf. Die Aktivität von t-PA ist aufgrund der reduzierten Klärfunktion des retikuloendothelialen Systems erhöht, die inhibitorische Aktivität erniedrigt, und es kommt während der Reperfusion zu einer massiven Freisetzung von t-PA. Diese Faktoren begünstigen die Entstehung einer Hyperfibrinolyse (Groenland u. Porte 2006). Aufgrund des häufigen Auftretens einer Hyperfibrinolyse – vorwiegend in der anhepatischen Phase der Lebertransplantation oder im Rahmen der Reperfusion des Transplantats – werden in vielen Transplantationszentren prophylaktisch Antifibrinolytika eingesetzt (Pietsch u. Schaffranietz 2006). Das scheint effektiv den Blutverlust und den Transfusionsbedarf zu senken (Chabbat et al. 1993).

Es gibt aber auch Patienten, die einen prothrombotischen Status aufweisen. Die Prophylaxe mit einem Antifibrinolytikum kann bei diesen Patienten zu thromboembolischen Komplikationen führen (Baubillier et al. 1994; Fitzsimons et al. 2001; Ramsay et al. 2004).

Schließlich haben verbesserte chirurgische Techniken, anästhesiologisches Management und Organprotektion zu einer drastischen Reduktion des Transfusionsbedarfs beigetragen. Vor diesem Hintergrund und im Zeitalter des POC- (Point-of-Care-) Gerinnungsmonitorings mit TEG (Thrombelastographie) wird der Nutzen einer antifibrinolytischen Prophylaxe bei Lebertransplantationen unterschiedlich bewertet.

Am Universitätsklinikum Essen wird seit 1999 nur bei Patienten mit einem erhöhten Risiko für eine Hyperfibrinolyse (fulminantes Leberversagen oder stark eingeschränktes Gerinnungspotenzial) zu Beginn der Operation ein Fibrinolysehemmer appliziert (Görlinger et al. 2006). Nach den Erfahrungen mit 642 Lebertransplantationen zwischen 2000 und 2005 lag die Inzidenz einer intraoperativen Hyperfibrinolyse unter Monitoring mittels Thrombelastographie bei 60%. Davon war ein Drittel nach der Reperfusion des Transplantats selbstlimitierend. Die Therapie mit einem Antifibrinolytikum war nur bei zwei Dritteln, also bei 40% der Transplantationen, notwendig. Ein Beispiel für eine selbstlimitierende Hyperfibrinolyse zeigt ▪ Abb. 50.3.

#### Orthopädie

Es konnte in einer Metaanalyse von 43 Studien gezeigt werden, dass durch die Anwendung von Tranexamsäure oder Aprotinin der Fremdblutbedarf bei großen orthopädischen Operationen reduziert werden kann (Zufferey et al. 2006). Eine generelle Empfehlung für den Einsatz von Antifibrinolytika bei diesen Operationen kann jedoch in Anbetracht des Risikoprofils der Medikamente nicht ausgesprochen werden.

#### Therapeutische Applikation

#### Operationen an t-PA-reichen Organen

Bei Operationen an t-PA-reichen Organen (Lunge, Pankreas, Nebenniere, Uterus, Prostata, Blase, Gehirn) kann durch die Traumatisierung des Gewebes mit hoher fibrinolytischer Aktivität eine lokale Aktivierung der Fibrinolyse zu massiven lokalen Blutungen führen. Die Entwicklung einer systemischen Hyperfibrinolyse rechtfertigt den Einsatz eines Fibrinolysehemmers (▪ Abb. 50.4).

#### Peripartale Blutung

Die Hyperfibrinolyse spielt bei lebensbedrohlichen peripartalen Blutungen eine besondere Rolle.

> **Cave**
>
> Post partum wird die t-PA-Synthese gesteigert, zudem kommt es zu einer Abnahme des $\alpha_2$-Antiplasmin-Spiegels. Daraus resultiert eine gesteigerte Plasminbildung und -aktivität, die durch eine Zunahme der Fibrinolyse große Gefahren in sich birgt.

Eine überschießende Aktivierung des Fibrinolysesystems, z. B. im Rahmen von Geburtsverletzungen, Uterusatonie, Fruchtwasserembolie oder eines HELLP-Syndroms, kann zu einer fulminant verlaufender Hyperfibrinolyse mit massiven Blutungskomplikationen führen (Pfanner u. Kilgert 2006).

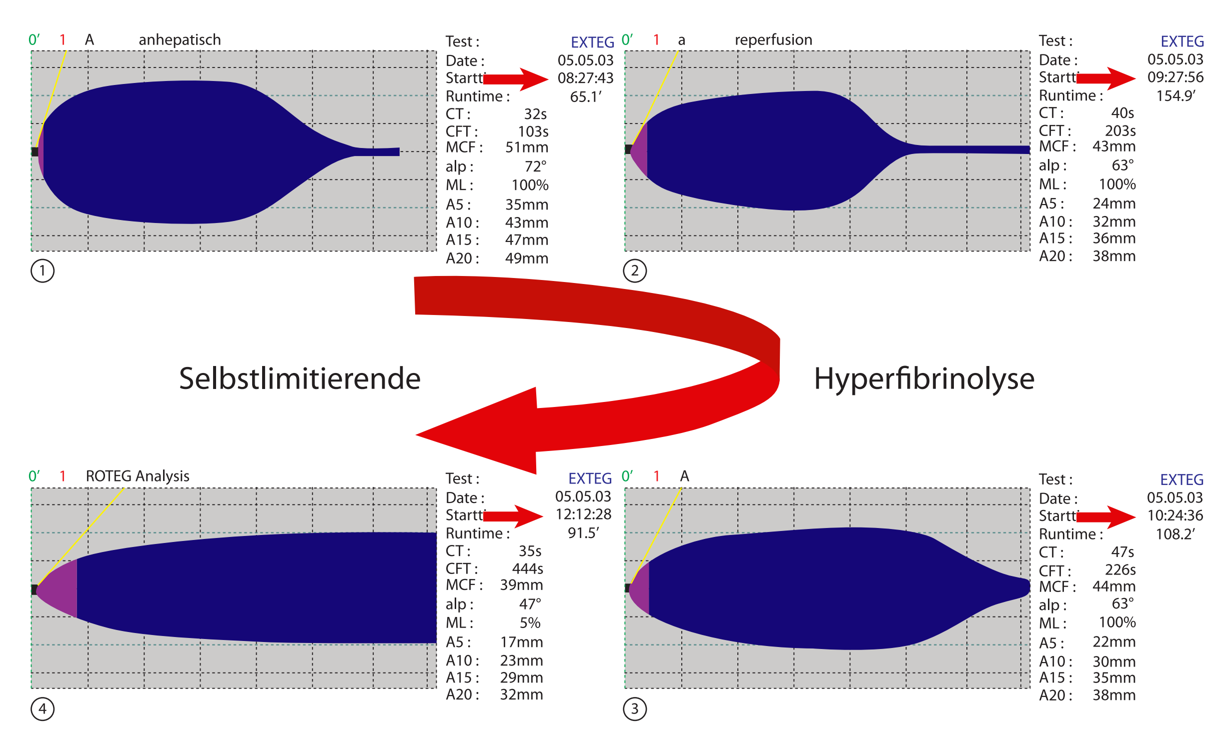



**Abb. 50.3.** Selbstlimitierende Hyperfibrinolyse bei einer Lebertransplantation im ROTEM (Pentapharm, München). Am Ende der anhepatischen Phase wird das Gerinnsel nach 40 min instabil und löst sich auf. Ohne diffuse Blutungsneigung wurde keine Therapie durchgeführt. In der Reperfusion ist die Hyperfibrinolyse unverändert und zu Operationsende beginnt die Lyse deutlich später. 2 h danach ist sie nicht mehr nachweisbar. Die Hyperfibrinolyse hat sich ohne Therapie selbst limitiert. *Violetter Bereich* <20 mm; *blauer Bereich* >20 mm. Reihenfolge: 1, 2, 3, 4 (aus Jambor, Görlinger 2007)

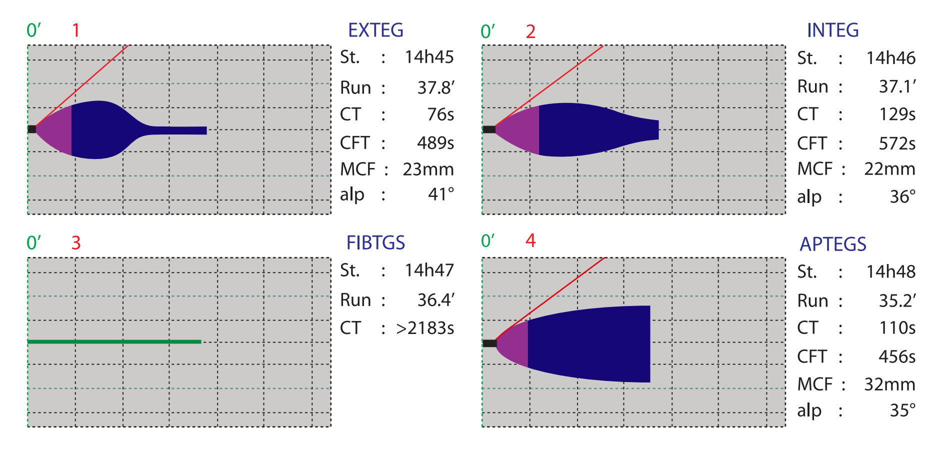



**Abb. 50.4.** ROTEM eines Patienten mit komplexer intraoperativer Hämostasestörung und massiver diffuser Blutung während eines urologischen Eingriffs. Im EXTEM und INTEM löst sich das Gerinnsel innerhalb von 20–30 min auf. Diese fulminante Hyperfibrinolyse wird im APTEM beseitigt. Die Gabe eines Antifibrinolytikums stellt die kausale Therapie dar (aus Jambor, Görlinger 2007)

## Polytrauma

Hyperfibrinolysen sind bei schweren Polytraumata wahrscheinlich häufiger, als in der Literatur beschrieben. Schöchl fand in der retrospektiven Analyse von über 200 polytraumatisierten Patienten, dass die Inzidenz einer Hyperfibrinolyse bei Polytraumata mit einem ISS-Score über 25 bei knapp 15% liegt (Schoechl 2006). Das Auftreten einer Hyperfibrinolyse kann bei Schwerstverletzten nicht sicher vorhergesagt werden. Am häufigsten ist eine Hyperfibrinolyse bei Patienten mit Thoraxtrauma, stumpfem Bauchtrauma, Becken- und Schädel-Hirn-Trauma. Die Letalität dieser Patienten innerhalb der ersten 48 h ist mit ca. 80% sehr hoch.

Dies wirft die Frage auf, ob die prophylaktische Gabe eines Antifibrinolytikums die Sterblichkeit von schwer po-

lytraumatisierten Patienten mit massiver Blutung beeinflussen kann. Die Antwort auf diese Frage liefern uns hoffentlich bald die Ergebnisse der weltweit angelegten CRASH2-Studie. Hier wird etwa 20.000 erwachsenen Traumapatienten mit schwerer Blutung randomisiert entweder Tranexamsäure oder Placebo appliziert und untersucht, ob die Intervention einen Einfluss auf den Blutverlust und die Sterblichkeit hat.

**! Ein neuerer Therapiealgorithmus zur Gerinnungstherapie des blutenden polytraumatisierten Patienten mit einem ISS-Score >25 empfiehlt die prophylaktische Gabe eines Fibrinolysehemmers bei einer $MCF_{EXTEM}$ < 35 mm oder $CT_{EXTEM}$ >80 s im ROTEM (MCF = »maximal clot firmness«, CT = »clotting timie«; Görlinger et al. 2006).**

## 50.2.7 Nicht operative Medizin

### Primäre Menorrhagie

Tranexamsäure reduziert den Blutverlust bei exzessiver Menstruationsblutung um ca. 40–50% (Bonnar u. Sheppard 1996). Eine orale Therapie sollte nur dann durchgeführt werden, wenn organische Ursachen der Menorrhagie ausgeschlossen wurden und wenn effektivere, kombinierte Östrogen-Progesteron-Präparate kontraindiziert sind.

### Obere Gastrointestinalblutung

Eine Metaanalyse an fast 1.300 Patienten mit Gastrointestinalblutungen aufgrund peptischer Ulzera oder Mukosaerosionen konnte die Wirksamkeit von Tranexamsäure nachweisen: Nachblutungen wurden um 20–30%, chirurgische Interventionen um 30–40% und die Sterblichkeit um 40% reduziert (Henry u. O'Connell1989). Trotzdem ist die Behandlung mit Tranexamsäure bei oberen Gastrointestinalblutungen aufgrund der hervorragenden Wirksamkeit der endoskopischen Interventionen nicht sehr verbreitet.

### Zahnfleischblutung bei Patienten mit vorbestehender Gerinnungsstörung

Blutungen im Rahmen von Zahnextraktionen bei Hämophiliepatienten können erfolgreich mit Tranexamsäure oder ε-Aminokapronsäure reduziert werden. Auch der Bedarf an Gerinnungsfaktorenkonzentraten wurde in 2 kleineren Studien gesenkt (Walsh et al. 1971; Forbes et al. 1972).

### Thrombozytopenieassoziierte Blutung

Mukosablutungen bei thrombopenischen Patienten konnten in 2 unkontrollierten Studien an 30 Patienten mit ε-Aminokapronsäure erfolgreich gestoppt werden (Bartholomew et al. 1989).

## 50.2.8 Monitoring

Klassische Laborparameter – wie z. B. die D-Dimere – haben nur eine geringe Korrelation zum Auftreten und Ausmaß einer Hyperfibrinolyse. Sie sind daher als Fibrinolysemarker im Rahmen einer akuten Blutung ungeeignet (Lang u. Depka 2006). Eine Erweiterung der Hyperfibrinolysediagnostik stellt die Thrombelastographie (TEG) dar. Generell spricht man von einer Hyperfibrinolyse, wenn die $MCF_{EXTEM}$ (maximal clot firmness, maximale Gerinnselfestigkeit im EXTEM) innerhalb von 60 min um mehr als 15% abnimmt. Eine weitere Differenzierung der Hyperfibrinolyse im ROTEM erfolgt nach dem Zeitpunkt des Beginns und dem Ausmaß der Hyperfibrinolyse (▶ Kap. 66).

### Literatur


Bartholomew JR, Salgia R, Bell WR (1989) Control of bleeding in patients with immune and nonimmune thrombocytopenia with aminocaproic acid. Arch Intern Med 149(9): 1959–61

Baubillier E, Cherqui D, Dominique C, Khalil M, Bonnet F, Fagniez PL, Duvaldestin P (1994) A fatal thrombotic complication during liver transplantation after aprotinin administration. Transplantation 57(11): 1664–6

Beierlein W, Scheule AM, Dietrich W, Ziemer G (2005) Forty years of clinical aprotinin use: a review of 124 hypersensitivity reactions. Ann Thorac Surg 79(2): 741–8

Bonnar J, Sheppard BL (1996) Treatment of menorrhagia during menstruation: randomised controlled trial of ethamsylate, mefenamic acid, and tranexamic acid. BMJ 313(7057): 579–82

Brown JR, Birkmeyer NJ, O'Connor GT (2007) Meta-analysis comparing the effectiveness and adverse outcomes of antifibrinolytic agents in cardiac surgery. Circulation 115(22): 2801–13

Chabbat J, Porte P, Tellier M, Steinbuch M (1993) Aprotinin is a competitive inhibitor of the factor VIIa-tissue factor complex. Thromb Res 71(3): 205–15

Colucci M, Binetti BM, Branca MG, Clerici C, Morelli A, Semeraro N, Gresele P (2003) Deficiency of thrombin activatable fibrinolysis inhibitor in cirrhosis is associated with increased plasma fibrinolysis. Hepatology 38(1): 230–7

Cramer EM, Lu H, Caen JP, Soria C, Berndt MC, Tenza D (1991) Differential redistribution of platelet glycoproteins Ib and IIb-IIIa after plasmin stimulation. Blood 77(4): 694–9

Dowd NP, Karski JM, Cheng DC, Carroll JA, Lin Y, James RL, Butterworth J (2002) Pharmacokinetics of tranexamic acid during cardiopulmonary bypass. Anesthesiology 97(2): 390–9

Fergusson DA, Hebert PC, Mazer CD et al. (2008) A comparison of aprotinin and lysine analogues in high-risk cardiac surgery. N Engl J Med 358: 2319–31

Fitzsimons MG, Peterfreund RA, Raines DE (2001) Aprotinin administration and pulmonary thromboembolism during orthotopic liver transplantation: report of two cases. Anesth Analg 92(6): 1418–21

Forbes CD, Barr RD, Reid G, Thomson C, Prentice CR, McNicol GP, Douglas AS (1972) Tranexamic acid in control of haemorrhage after dental extraction in haemophilia and Christmas disease. Br Med J 2(5809): 311–3

Görlinger K (2006) Gerinnungsmanagement bei Lebertransplantationen. Hämostaseologie 26(3 Suppl 1): S64–76

Görlinger K, Vorweg M, Hanke A, Monaca E, Wappler F, Peters J (2006) Gerinnungsmanagement beim Polytrauma auf der Grundlage eines ROTEM-basierten Algorithmus. Intensivmed 43 (Suppl1): 87

Groenland TH, Porte RJ (2006) Antifibrinolytics in liver transplantation. Int Anesthesiol Clin 44(3): 83–97

Hellstern P (2004) Solvent/detergent-treated plasma: composition, efficacy, and safety. Curr Opin Hematol 11(5): 346–50

Henry DA, Moxey AJ, Carless PA, O'Connell D, McClelland B, Henderson KM, Sly K, Laupacis A, Fergusson D (2001) Anti-fibrinolytic use for minimising perioperative allogeneic blood transfusion. Cochrane Database Syst Rev (1): CD001886

Henry DA, O'Connell DL (1989) Effects of fibrinolytic inhibitors on mortality from upper gastrointestinal haemorrhage. BMJ 298(6681): 1142–6

Hill GE, Pohorecki R, Alonso A, Rennard SI, Robbins RA (1996) Aprotinin reduces interleukin-8 production and lung neutrophil accumulation after cardiopulmonary bypass. Anesth Analg 83(4): 696–700

Jambor C, Görlinger K (2007) Einsatz von Antifibrinolytika bei Massivtransfusionen. A&I 48: 167–173

Karkouti K, Beattie WS, Dattilo KM, McCluskey SA, Ghannam M, Hamdy A, Wijeysundera DN, Fedorko L, Yau TM (2006) A propensity score case-control comparison of aprotinin and tranexamic acid in high-transfusion-risk cardiac surgery. Transfusion 46(3): 327–38

Khan MM, Gikakis N, Miyamoto S, Rao AK, Cooper SL, Edmunds LH Jr, Colman RW (1999) Aprotinin inhibits thrombin formation and monocyte tissue factor in simulated cardiopulmonary bypass. Ann Thorac Surg 68(2): 473–8

Landis RC, Haskard DO, Taylor KM (2001) New antiinflammatory and platelet-preserving effects of aprotinin. Ann Thorac Surg 72(5): S1808–13

Lang T, von Depka M (2006) Possibilities and limitations of thrombelastometry/-graphy. Hamostaseologie 26(3 Suppl 1): S20–9

Laupacis A, Fergusson D (1997) Drugs to minimize perioperative blood loss in cardiac surgery: meta-analyses using perioperative blood transfusion as the outcome. The International Study of Peri-operative Transfusion (ISPOT) Investigators. Anesth Analg 85(6): 1258–67

Lucas-Polomeni MM, Delaval Y, Menestret P, Delaval P, Ecoffey C (2004) A case of anaphylactic shock with tranexamique acid (Exacyl). Ann Fr Anesth Reanim 23(6): 607–9

Mangano DT, Miao Y, Vuylsteke A et al. (2007) Mortality associated with aprotinin during 5 years following coronary artery bypass graft surgery. Jama 297(5): 471–9

Mangano DT, Tudor IC, Dietzel C (2006) The risk associated with aprotinin in cardiac surgery. N Engl J Med 354(4): 353–65

Mannucci PM (1998) Hemostatic drugs. N Engl J Med 339(4): 245–53

Mojcik CF, Levy JH (2001) Aprotinin and the systemic inflammatory response after cardiopulmonary bypass. Ann Thorac Surg 71(2): 745–54

Oudijk EJ, Nieuwenhuis HK, Bos R, Fijnheer R (2000) Elastase mediated fibrinolysis in acute promyelocytic leukemia. Thromb Haemost 83(6): 906–8

Paparella D, Brister SJ, Buchanan MR (2004) Coagulation disorders of cardiopulmonary bypass: a review. Intensive Care Med 30(10): 1873–81

Pfanner G, Kilgert K (2006) Haemorrhagic complications in obstetrics. Hamostaseologie 26(3 Suppl 1): S56–63

Pietsch UC, Schaffranietz L (2006) Anaesthesiological management in orthotopic liver transplantation – results of a survey. Anasthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 41(1): 21–6

Quinton TM, Kim S, Derian CK, Jin J, Kunapuli SP (2004) Plasmin-mediated activation of platelets occurs by cleavage of protease-activated receptor 4. J Biol Chem 279(18): 18434–9

Ramsay MA, Randall HB, Burton EC (2004) Intravascular thrombosis and thromboembolism during liver transplantation: antifibrinolytic therapy implicated? Liver Transpl 10(2): 310–4

Schoechl H (2006) Coagulation management in major trauma. Hamostaseologie 26(3 Suppl 1): S52–5

Veres G, Radovits T, Schultz H, Lin LN, Hutter J, Weigang E, Szabolcs Z, Szabo G (2007) Effect of recombinant aprotinin on postoperative blood loss and coronary vascular function in a canine model of cardiopulmonary bypass. Eur J Cardiothorac Surg 32(2): 340–5

Wachtfogel YT, Kucich U, Hack CE, Gluszko P, Niewiarowski S, Colman RW, Edmunds LH Jr (1993) Aprotinin inhibits the contact, neutrophil, and platelet activation systems during simulated extracorporeal perfusion. J Thorac Cardiovasc Surg 106(1): 1–9 discussion 9–10

Walsh PN, Rizza CR, Matthews JMet al. (1971) Epsilon-Aminocaproic acid therapy for dental extractions in haemophilia and Christmas disease: a double blind controlled trial. Br J Haematol 20(5): 463–75

Xia VW, Steadman RH (2005) Antifibrinolytics in orthotopic liver transplantation: current status and controversies. Liver Transpl 11(1): 10–8

Zufferey P, Merquiol F, Laporte S, Decousus H, Mismetti P, Auboyer C, Samama CM, Molliex S (2006) Do antifibrinolytics reduce allogeneic blood transfusion in orthopedic surgery? Anesthesiology 105(5): 1034–46

## 50.3 Plasma

*P. Hellstern*



### Einleitung

Frischplasma ist ein Blutprodukt, das alle Gerinnungsfaktoren in physiologischer Konzentration enthält. Zur therapeutischen Anwendung steht gefrorenes Frischplasma, lyophylisiertes Humanplasma und virusinaktiviertes Poolplasma zur Verfügung. Gesicherte Indikationen sind die Behandlung der TTP (thrombotisch-thrombozytopenische Purpura), komplexe Gerinnungsstörungen, die Prophylaxe und Therapie der Verlustkoagulopathie und ein Mangel an Gerinnungsfaktoren, für die kein Konzentrat zur Verfügung steht. Frischplasma enthält AB-Isoagglutinine und wird daher AB0-kompatibel transfundiert.

### 50.3.1 Präparate

Vier zugelassene Präparate stehen in Deutschland zur Verfügung.

**Gefrorenes Frischplasma.** GFP wird aus Vollblutspenden mittels Plasmapherese oder durch Multikomponentenspende gewonnen, leukozytendepletiert und spätestens 24 h nach der Spende eingefroren. Zur Minimierung des Risikos der Übertragung von HIV (»human deficiency virus«), Hepatitis B und C (HBV und HCV) darf GFP nach mindestens 4 Monaten Quarantänelagerung nur dann therapeutisch eingesetzt werden, wenn die Zweituntersuchung des Spenders auf die Marker dieser Viren die Freigabebedingungen erfüllt. GFP enthält alle Gerinnungsfaktoren und Inhibitoren der Hämostase in einer durchschnittlichen Aktivität von 100 E/dl bzw. 100%, bei starken Schwankungen entsprechend der interindividuellen Variabilität. Mittels Plasmapherese hergestelltes GFP enthält gegenüber GFP aus Vollblut höhere Aktivitäten der Gerinnungsfaktoren V, VIII, IX und XI (Runkel et al. 2005). GFP kann geringe Mengen an Leukozyten und Thrombozyten enthalten.

**Lyophilisiertes Humanplasma.** LHP oder LyoPlas N® sind wie GFP ein Einzelspenderplasma, das nach Entfernung von Zellen und Zellfragmenten mittels Filtration und nach Quarantänelagerung lyophilisiert, bei Raumtemperatur gelagert und kurz vor Gebrauch gelöst wird. Für LHP liegen bislang keine publizierten Daten vor.

**Solvent-Detergent-(SD-)behandeltes Plasma.** SDP oder Octaplas® wird durch Mischen (Poolen) von 500–1.600 Einzelspenderplasmen hergestellt. Die Behandlung mit dem Lösungsmittel (Solvent) Tri-n-butylphosphat (TNBP) und dem Detergens Triton-X 100 eliminiert lipidumhüllte Viren vollständig, zu denen auch HIV, HBV und HCV gehören. Das Risiko der Übertragung der nicht lipidumhüllten Viren HAV (Hepaitits A) und Parvovirus B19 wird durch Testung der Einzelspenderplasmen mittels Nukleinsäureamplifikationstechnik (NAT) und Virusneutralisation durch die im Plasmapool vorhandenen Antikörper minimiert. Das Poolen erhöht das sehr geringe Restrisiko der Übertragung der neuen Variante der Creutzfeld-Jakob-Krankheit gegenüber Plasmen aus Einzelspenden.

SDP ist durch die Ultrafiltration völlig frei von Zellen und Zellfragmenten (Hellstern 2004). Herstellungsbedingt enthält SDP um durchschnittlich ca. 10% niedrigere Aktivitäten der Gerinnungsfaktoren und Inhibitoren als GFP. Die Aktivitäten von Plasmininhibitor ($\alpha_2$-Antiplasmin) und Protein S liegen mit ca. 25% bzw. 60% noch niedriger (Hellstern et al. 1992). Mindestens 11 klinische Studien, die alle Indikationen für Plasma erfassten, zeigten jedoch keine Unterschiede in der klinischen Wirksamkeit zwischen GFP und SDP (Hellstern u. Haubelt 2002; Chekrizova u. Murphy 2006; Santagostino et al. 2006).

SDP enthält wie GFP normale Aktivitäten der zur Behandlung der thrombotisch-thrombozytopenischen Purpura (TTP) wichtigen Von-Willebrand-Faktor-Cleaving-Protease (ADAMTS13; Yarranton et al. 2004). Das Poolen mehrerer Hundert Einzelspenderplasmen bewirkt die Nivellierung interindividueller Schwankungen von Plasmaproteinspiegeln und eine Verdünnung ggf. vorliegender hochtitriger Antikörper in Einzelspenderplasmen, z. B. gegen Leukozyten.

**Methylenblau-Licht-behandeltes Plasma.** MLP ist ein leukozytendepletiertes Einzelspenderplasma, das mit Methylenblau versetzt und mit Rotlicht mit einer Wellenlänge von 590 nm bestrahlt wird. Anschließend wird Methylenblau mithilfe eines Spezialfilters entfernt und das Plasma eingefroren. Das Methylenblau-Licht-Verfahren inaktiviert klinisch relevante Viren vollständig, sofern sie nicht in sehr hoher Konzentration vorliegen, wie dies z. B. bei Parvovirus B19 der Fall sein kann (Pereira 2004).

In MLP unterliegen wie in GFP die Plasmaproteinspiegel den natürlichen interindividuellen Schwankungen. Die durch Methylenblau und Licht ausgelöste Fotooxidation bewirkt eine Minderung des gerinnbaren Fibrinogens und der FVIII-Aktivität um 20–35% (Williamson et al. 2003). Die Aktivitäten der Gerinnungsfaktoren V, IX und XI können ebenfalls um mehr als 10% abfallen. Wegen fehlender kontrollierter Studien zur Wirksamkeit und Verträglichkeit von MLP ist die klinische Bedeutung der Veränderungen von Plasmaproteinen durch die Fotooxidation unbekannt (Williamson et al. 2003).

MLP war in 2 Studien zum Plasmaaustausch bei thrombotisch-thrombozytopenischer Purpura weniger wirksam als GFP (de la Rubia et al. 2001; Alvarez-Larrán et al. 2004), obwohl MLP normale Spiegel der vWF:CP enthält (Furlan et al. 1999). Nach Umstellung von GFP auf MLP erhöhte sich der Bedarf an Plasma an einem großen spanischen Klinikum um 50% (Atance et al. 2001).

Derzeit werden 2 weitere Plasmapräparate klinisch geprüft: Uniplas® wird durch Mischen von SDP der Blutgruppen A, B und AB im Verhältnis 70:20:10 hergestellt. Hierdurch werden die Isoagglutinine durch lösliche A- und B-Substanz weitgehend neutralisiert, sodass Uniplas® ohne Berücksichtigung der AB0-Blutgruppe des Empfängers und ohne Gefahr hämolytischer Transfusionsreaktionen verabreicht werden kann (Solheim 2006).

AUVP, ein mit Amotosalen (S-59) und langwelligem ultraviolettem Licht (UV-A) behandeltes Plasma, ist hinsichtlich seiner Zusammensetzung und Sicherheit ähnlich zu beurteilen wie MLP (Singh et al. 2006). In einer kleinen randomisierten, kontrollierten Studie an Patienten mit TTP waren AUVP und GFP gleichermaßen effektiv (Mintz et al. 2006).

### 50.3.2 Indikationen

Prinzipiell ist eine Therapie mit Plasma indiziert, wenn:
- die Plasmaaktivitäten der Gerinnungsfaktoren und Inhibitoren der Hämostase bei komplexen Koagulopathien wegen manifester oder drohender schwerer Blutungen angehoben oder zumindest aufrechterhalten werden müssen,
- Plasmaaktivitäten von Gerinnungsfaktoren angehoben werden müssen, für deren Substitution noch keine zugelassenen Konzentrate zur Verfügung stehen. Dies betrifft einen Mangel an FV, FXI oder ADAMTS13.

Die Behandlung anderer Koagulopathien erfolgt grundsätzlich mit Gerinnungsfaktorenkonzentraten, z. B. Hämophilie A mit FVIII-Konzentraten. Die notfallmäßige Aufhebung des Effekts oraler Antikoagulanzien sollte mit rascher und besser wirksamen Prothrombinkomplexkonzentraten (PPSB) erfolgen (Aquilar et al. 2007). PPSB-Konzentrate können Plasma zur Behandlung komplexer Koagulopathien jedoch nicht ersetzen, da sie folgende Gerinnungsfaktoren nicht enthalten: Fibrinogen, FV, FVIII, VWF, FXI und FXIII.

Die Behandlung einer Koagulopathie mit Plasma ist aus folgenden Gründen wenig effizient:
- Einige Gerinnungsfaktoren haben eine kurze biologische Halbwertszeit (FV: 12–15 h; FVII: 3–6 h). Der Substitutionseffekt hält nicht lange an, sodass kurze Transfusionsintervalle von 4–12 h erforderlich sind, um hämostatisch wirksame Plasmaspiegel zu erreichen oder aufrechtzuerhalten.
- Patienten mit erworbenen Koagulopathien haben häufig eine Umsatzsteigerung von Gerinnungsfaktoren und Inhibitoren der Hämostase durch Verbrauch, Verlust und Verdünnung, mit der Folge einer zeitlich verkürzten und verminderten Wirksamkeit von Plasma gegenüber Patienten im Steady State.
- Die signifikante Anhebung der Plasmaspiegel von Gerinnungsfaktoren und Inhibitoren der Hämostase erfordert die Transfusion großer Plasmamengen. Die erforderliche Dosis kann wegen der Gefahr einer Volumenüberladung häufig nicht verabreicht werden. In einigen Fällen, wie z. B. bei der Behandlung der TTP, kann der Plasmaaustausch ein Ausweg aus diesem therapeutischen Dilemma sein.

Die folgenden Empfehlungen zur Anwendung von Plasma werden nach den Kriterien der evidenzbasierten Medizin bewertet, die in den Leitlinien der Bundesärztekammer zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten entwickelt und bereits an anderer Stelle publiziert wurden (Greinacher et al. 2007):
- Grad-1-Empfehlungen: Der Nutzen für die Patienten ist eindeutig oder klar.
- Grad-2-Empfehlungen: Der Nutzen für die Patienten fehlt oder ist unklar.

Die Stärke einer Empfehlung beruht weiterhin auf folgenden Evidenzgraden:
- A: basierend auf methodisch einwandfreien randomisierten, kontrollierten Studien, bei Grad-2-Empfehlungen mit unterschiedlicher Datenlage;
- B: basierend auf methodisch angreifbaren randomisierten, kontrollierten Studien;
- C+: basierend auf nicht randomisierten, kontrollierten Studien, jedoch eindeutige Datenlage;
- C: Beobachtungen, Expertenmeinungen.

### Verdünnungs- und Verlustkoagulopathie bei schwerem akutem Blutverlust und Massivtransfusion

Kohortenstudien an Patienten, die wegen akutem Blutverlust massiv mit Volumenersatzmitteln und heute ausschließlich verwendeten plasmaarmen Erythrozytenkonzentraten (EK) transfundiert wurden, zeigten häufig bereits bei einem Volumenverlust, der das zirkulierende Blutvolumen überschritt, einen als kritisch angesehenen Abfall des Fibrinogenspiegels unter 1 g/l oder des Quick-Werts unter 50% (Murray et al. 1988; Faringer et al. 1993; Murray et al. 1995; Hiippala et al. 1995). Unterhalb dieser Grenzwerte sind mikrovaskuläre Blutungen zu erwarten.

In 2 retrospektiven Studien an massiv transfundierten Patienten mit schwerem Trauma bzw. mit rupturiertem Aortenaneurysma verbesserte die frühzeitige Verabreichung von Plasma in einer Dosierung von einer Einheit pro Einheit transfundiertem Erythrozytenkonzentrat das Überleben signifikant (Borgman et al. 2007; Johansson et al. 2007). Kontrollierte prospektive Studien zur Ermittlung wirksamer Strategien zur Transfusion von Plasma fehlen.

Plasma sollte bei akutem Blutverlust transfundiert werden, wenn folgende Bedingungen vorliegen:

- Anhaltender starker Blutverlust über 100 ml/min nach Transfusion von mindestens 4–6 EK, insbesondere, wenn Quick-Wert, APTT und Fibrinogen nicht rechtzeitig verfügbar sind.
- Quick-Wert <50% oder APTT um mehr als das 1,5-fache des mittleren Referenzbereiches verlängert und/oder Fibrinogen <1 g/l (Clauss-Methode). Hierbei sind Unterschiede in der Sensitivität verschiedener Reagenzien gegenüber Mangelzuständen an Gerinnungsfaktoren und Störeinflüsse zu berücksichtigen, z. B. durch Heparin (APTT) oder Volumenersatzmittel (APTT, Fibrinogen); auch die Referenzbereiche verschiedener APTT-Reagenzien sind unterschiedlich.
- Die schnelle Plasmatransfusion von 15–20 ml/kgKG mit einer Geschwindigkeit von 30–50 ml/min ist der schematischen Gabe von einer Einheit Plasma auf 1–3 Einheiten EK vorzuziehen (Hiippala 1998).

**! Ziel der Behandlung ist das Sistieren bzw. die Verhütung von mikrovaskulären Blutungen, die durch die komplexe Koagulopathie verursacht oder mitverursacht werden.**

In der Herzchirurgie ist die prophylaktische postoperative Gabe von Plasma zur Minderung des postoperativen Blutverlusts nicht indiziert (Casbard et al. 2004).

Bei Patienten mit schwerem akutem Blutverlust und manifesten oder drohenden mikrovaskulären Blutungen, die durch eine Koagulopathie mit Quick-Werten <50% oder einer um mehr als das 1,5-fache des mittleren Referenzbereiches verlängerten APTT und/oder Fibrinogenspiegel <1 g/l mitverursacht werden, sollte Plasma in einer Dosierung von 15–20 ml/kgKG rasch transfundiert werden. Wiederholte Plasmatransfusionen sind häufig notwendig (Evidenzgrad 1C).

Bei Patienten mit kardiopulmonalen Bypass-Operationen ohne mikrovaskuläre Blutungen und ohne Vorliegen einer diese mitverursachenden Koagulopathie soll Plasma nicht prophylaktisch postoperativ transfundiert werden (Evidenzgrad 1A).

### Lebererkrankungen

Schwere fortgeschrittene Lebererkrankungen gehen mit komplexen Hämostasestörungen einher, die neben einer Koagulopathie infolge von Mindersynthese und Umsatzsteigerung von Gerinnungsfaktoren und Inhibitoren auch Thrombozytopenien, Thrombozytopathien und Störungen der Fibrinolyse umfassen (Kujovich 2005). Als Maß für die Schwere der Koagulopathie wird der Quick-Wert herangezogen. Bei Lebererkrankungen sind nur die Angaben in % der Norm von Reagenz zu Reagenz vergleichbar und sollten Angaben in Sekunden oder INR vorgezogen werden (Robert u. Chazoullieres 1996; Kovacs 2002).

Da nicht nur die Gerinnungsfaktoren, sondern auch die Inhibitoren der Hämostase vermindert zirkulieren, ist die Blutungsneigung häufig geringer ausgeprägt, als es die Verminderung des Quick-Werts vermuten lässt (Tripodi et al. 2005; Matsushita u. Saito 2006). Dennoch lässt sich aus mehreren Beobachtungen ein Zusammenhang zwischen dem laboranalytisch festgestellten Ausmaß einer Koagulopathie und der Blutungsneigung ableiten (Reverter 2006).

Für alle klinischen Situationen bei Patienten mit Lebererkrankungen gilt: Der Schwellenwert des Quick-Werts oder anderer Hämostaseparameter, bei denen eine therapeutische Intervention mit Plasma Blutungskomplikationen signifikant reduziert, ist nicht bekannt.

**Cave**

Da bei Patienten mit Hepatopathien das intravaskuläre Blutvolumen zumeist hormonell hochgestellt ist, ist die Gefahr der Hypervolämie bei Transfusion hoher Plasmadosen höher als bei anderen Krankheitsbildern.

Eine Lebertransplantation ist keine zwingende Indikation für Plasma. Der Bedarf an Blutprodukten einschließlich Plasma hängt in erster Linie von der Operationstechnik und der Operationsdauer ab. Einige Zentren benötigen im Rahmen von Lebertransplantationen niemals Plasma (Dupont et al. 1996; Ozier et al. 2003).

Bei Patienten mit schwerer Leberfunktionsstörung, die sich einer Cholezystektomie, einer laparoskopischen Cholezystektomie, einer Leberteilresektion oder anderen mitt-

leren oder schweren Operationen unterziehen müssen, besteht eine Assoziation zwischen Quick-Wert und postoperativen Blutungen (Friedman 1999; Martin et al. 2003; Schiff et al. 2005). Ziel der Therapie mit Plasma ist die Anhebung des Quick-Werts auf über 50% (Martin et al. 2003). Hierzu sind Einzeldosen von 20 ml/kgKG erforderlich (Youssef et al. 2003). Andererseits zeigen Beobachtungen an Patienten ohne schwere Hepatopathie, dass Leberteilresektionen auch bei Quick-Werten zwischen 35 und 40% ohne Plasmatransfusionen durchgeführt werden können, solange keine starken intra- oder postoperativen Blutungen auftreten (Martin et al. 2003; Schiff et al. 2005).



Bei akutem Leberversagen verbessert die prophylaktische Gabe von Plasma die Prognose offenbar nicht (Gazzard et al. 1975).

Die ultraschallgesteuerte und die laparoskopisch überwachte Feinnadelpunktion der Leber geht bei Patienten mit Hepatopathie und Quick-Werten unter 50% nicht mit erhöhten Raten an Blutungskomplikationen einher (Ewe 1981; McVay u. Toy 1990; Caturelli et al. 1993). Die prophylaktische Gabe von Plasma vor Leberpunktion bei Quick-Werten <50% ist daher nicht indiziert, wenngleich sich eine laparoskopische Nachbeobachtung der Blutung aus dem Biopsiekanal empfiehlt. Eine Verminderung des Quick-Werts bis auf 30% führt nicht zu erhöhten Blutungsraten bei Patienten, die sich einer Parazentese oder einer Thorakozentese unterziehen müssen, die prophylaktische Gabe von Plasma ist nicht indiziert (McVay u. Toy 1991). Die Punktion zentraler Venen resultiert bei Patienten mit Quick-Werten <10% in vermehrten oberflächlichen Hämatomen, nicht jedoch in verlängertem Nachbluten aus dem Stichkanal (Fisher u. Mutimer 1999), sodass die prophylaktische Transfusion von Plasma nicht indiziert ist.

Bei Patienten mit Hepatopathie und Koagulopathie mit Quick-Werten <50% und schweren Blutungen kann Plasma in einer Dosis von 20 ml/kgKG transfundiert werden. Ziel der Behandlung ist das Sistieren der Blutung und die Anhebung des Quick-Werts auf mindestens 50% (Evidenzgrad 2C).

Bei Patienten mit Hepatopathie und Koagulopathie mit Quick-Werten <50% kann Plasma vor Operationen mit Gefahr der schweren Blutung in einer Dosis von 20 ml/kgKG transfundiert werden. Ziel: Anhebung des Quick-Werts auf mindestens 50% bis zum Abschluss der primären Wundheilung (Evidenzgrad 2C).

Bei Patienten mit Lebertransplantation und Quick-Werten ≥50% sollte Plasma perioperativ nicht prophylaktisch verabreicht werden (Evidenzgrad 2C).

Plasma soll nicht prophylaktisch verabreicht werden bei Patienten mit Hepatopathie und Koagulopathie im Rahmen von Leberpunktionen, Parazentesen, Thorakozentesen oder Punktionen zentraler Venen (Evidenzgrad 1C+).

### Disseminierte intravasale Gerinnung (DIC)

Mit Ausnahme einer kleinen Studie an Neugeborenen, die weder einen Effekt der Austauschtransfusion noch der Gabe von Plasma und Thrombozyten auf die Überlebensrate nachweisen konnte (Gross et al. 1982), existieren keine kontrollierten Untersuchungen zur Wirksamkeit von Plasma bei DIC.

**! Bei Patienten mit DIC und schweren Blutungen, die u. a. durch eine schwere Koagulopathie begünstigt werden, sollen hohe Plasmadosen wiederholt infundiert werden, z. B. 20 ml /kgKG (Mueller et al. 2002).**

Ziel der Therapie ist die Erhaltung hämostatisch wirksamer Mindestspiegel von Gerinnungsfaktoren, entsprechend einem Quick-Wert von 50% und einer APTT <45 s (Evidenzgrad 2C).

Die prophylaktische Gabe von Plasma hat keinen günstigen Einfluss auf die Prognose von Patienten mit akuter Pankreatitis ohne DIC (Leese1987; Leese et al. 2001; Evidenzgrad 1A).

### Thrombotisch-thrombozytopenische Purpura (TTP) und hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS)

Der Plasmaaustausch ist wahrscheinlich nur bei den häufigsten Formen der TTP wirksam, die durch einen ADAMTS13-Mangel oder einen ADAMTS13-Inhibitor gekennzeichnet sind. Der Plasmaaustausch entfernt die Antikörper und ersetzt fehlendes ADAMTS13.

Da zum Zeitpunkt der Entscheidung über die Therapie TTP und HUS nicht sicher voneinander abgegrenzt werden können, wird in allen Fällen mit Plasmaaustausch begonnen. Dieser hat zu einer wesentlichen Senkung der 2-Jahres-Mortalität von über 90% auf 20–30% geführt und ist der alleinigen Transfusion von Plasma deutlich überlegen (Shepard u. Bukowski 1987, Rock et al. 1991, Bell et al. 1991). Der Austausch wird mit 40–60 ml Plasma/kgKG täglich durchgeführt, bis die Thrombozytenzahl auf >100/nl ansteigt. Bei schlechtem Ansprechen ist ein Versuch mit 2-mal täglichem Plasmaaustausch angezeigt (Evidenzgrad 1A).

Plasmainfusionen sind nur bei der sehr seltenen kongenitalen Form der TTP effektiv, wenn im Stadium der Remission Rezidive verhindert werden sollen. Hierbei genügen prophylaktische Infusionen von 10 ml Plasma/kgKG alle 1–3 Wochen, bei einer biologischen Halbwertszeit der ADAMTS13 von 50–80 h (Furlan et al. 1999; Fontana et al. 2006; Evidenzgrad 1C).

### Hereditärer Faktor-V-Mangel und hereditärer Faktor-XI-Mangel

Bei dem sehr seltenen schweren angeborenen FV-Mangel mit FV-Restaktivitäten unter 5% werden vor Operationen, invasiven Prozeduren und bei schweren Blutungen 15–20 ml Plasma/kgKG infundiert, um einen hämostatisch wirksamen

FV-Spiegel von mindestens 15–20% aufrecht zu erhalten. Wegen der kurzen biologischen Halbwertszeit von FV (12–15 h) muss Plasma in 12-stündigen Intervallen transfundiert werden (Bolton-Maggs et al. 2004; Evidenzgrad 1C+).

Bei schweren Blutungen und Gefahr der Volumenüberladung kann ein Plasmaaustausch notwendig sein, insbesondere bei Kindern (Baron et al. 2001; Evidenzgrad 2C).

Die Wirksamkeit einer zusätzlichen Therapie mit Thrombozytenkonzentraten wegen des hohen FV-Gehalts in Thrombozyten ist fraglich. Die Behandlung mit rekombinantem FVIIa alleine oder in Ergänzung zu Plasma kann sinnvoll sein (Gonzales-Boullosa et al. 2005).

Bei schwerem FXI-Mangel (FXI-Restaktivität <5%) und leichtem FXI-Mangel mit schwerer Blutungsneigung werden vor Operationen, invasiven Prozeduren und bei schweren Blutungen 15–20 ml Plasma/kgKG infundiert, um einen hämostatischen Mindestspiegel von 20% zu erreichen. Wegen der langen biologischen Halbwertszeit des FXI von ca. 60 h genügen in der Regel Plasmatransfusionen in 24-stündigen Abständen (Bolton-Maggs et al. 2004). Bei leichtem FXI-Mangel mit schwerer Blutungsneigung muss Plasma transfundiert werden, wenn Fibrinkleber, Desmopressin (DDAVP) und Antifibrinolytika zur Blutstillung nicht ausreichen (Evidenzgrad 1C+). In seltenen Fällen kann zur Vermeidung einer Volumenüberladung ein Plasmaaustausch erforderlich sein (Novakova et al. 1986; Evidenzgrad 2C).

FXI-Konzentrate stehen in Deutschland nicht zur Verfügung und stehen in Verdacht, thromboembolische Komplikationen zu verursachen (Bolton-Maggs et al. 1994). Eine Alternative zu Plasma könnte rekombinanter FVIIa sein (O'Connell 2004).

### Spezielle Indikationen bei Kindern

**! Die prophylaktische Gabe von 3–20 ml Plasma/kgKG bei Frühgeborenen am ersten und zweiten Lebenstag hat keinen Einfluss auf die Häufigkeit und Schwere zerebraler Blutungen, die Mortalität und die Langzeitprognose (Osborn u. Evans 2004; Evidenzgrad 1A).**

Plasmainfusionen haben keinen günstigen Einfluss auf den Verlauf des hämolytisch-urämischen Syndroms (HUS) bei Kindern (Loirat et al. 1988; Rizzoni et al. 1988; Evidenzgrad 1B).

Der partielle Austausch mit Plasma hat gegenüber dem Austausch mit Volumenersatzmitteln keinen Vorteil bei der Behandlung des Hyperviskositätssyndroms bei Neugeborenen mit Polyzythämie (Deorari et al. 1995; Supapannachart et al. 1999; Evidenzgrad 1B).

Erfolgt bei Neugeborenen oder Kleinkindern eine Operation mit kardiopulmonalem Bypass oder eine Membranoxygenierung, werden EK und Plasma und ggf. Thrombozytenkonzentrate als Prime-Lösung verwendet, da ein Missverhältnis zwischen dem Blutvolumen des Kindes und dem Füllvolumen der Maschine besteht. Eine prospektive randomisierte Studie, in der Plasma mit Albumin zur Füllung der Herz-Lungen-Maschine verglichen wurde, ergab eine Tendenz zu geringerem Blutverlust in der Plasmagruppe (Oliver et al. 2003). Eine weitere, sehr kleine prospektive randomisierte Studie zeigte keinen Unterschied zwischen den Gruppen mit und ohne Plasma in der Prime-Lösung (McCall et al. 2004; Evidenzgrad 2C).

Aus den gleichen Gründen wie bei kardiopulmonalen Bypass-Operationen erfolgt die Austauschtransfusion bei Neugeborenen mit schwerer Hämolyse oder Hyperbilirubinämie mithilfe von EK, die mit kompatiblem Plasma gemischt werden (Evidenzgrad 1C+).

### Weitere nicht empfohlene Indikationen für Plasma

Plasma ist nicht indiziert bei Verbrennungen ohne Blutungskomplikationen und ohne Koagulopathie (Bocanegra et al. 1978; Alexander et al. 1979) sowie als Mittel zum Plasmaaustausch bei Guillain-Barré-Syndrom (Raphael et al. 2004). Plasma ist kein primäres Volumenersatzmittel und eignet sich nicht für eine parenterale Ernährung, eine Substitution von Immunglobulinen oder eine Behandlung von Plasmaproteinmangelzuständen, die mit Konzentraten wirksamer und verträglicher therapiert werden können.

## 50.3.3 Dosierung und Applikation

Aufgetaute bzw. mit Wasser rekonstituierte Plasmapräparate müssen innerhalb von 6 h angewendet werden. Die Transfusion erfolgt intravenös unter Verwendung von Transfusionsbestecken mit Standardfiltern der Porengröße 170–230 μm, um Gerinnsel zurückzuhalten. Gebrauchsfertigem Plasma darf kein Medikament bzw. keine Infusionslösung beigefügt werden. Bei der Wahl der Infusionsgeschwindigkeit und der Dosis muss die Gefahr der Hypervolämie, der Unterkühlung und der Zitratintoxikation berücksichtigt werden. Die Erwärmung des Plasmas vor oder während der Transfusion mit dafür zugelassenen Geräten ist notwendig bei Patienten mit Massivtransfusion, Unterkühlung vor Transfusion, Kälteagglutininkrankheit, hochtitrigen Kälteantikörpern, Vasospasmus auf Kältereiz sowie bei Früh- und Neugeborenen und Kindern.

Plasma mit Ausnahme von Uniplas® muss AB0-gleich oder zumindest AB0-kompatibel transfundiert werden. Eine serologische Verträglichkeitsprobe entfällt. Der transfundierende Arzt muss bei dringlichen Transfusionen den Zeitbedarf für das Auftauen von gefrorenen Plasmen von ca. 30 min und für den Transport beachten.

Selbst hohe Plasmadosen bewirken lediglich einen moderaten Anstieg der Aktivitäten der Gerinnungsfaktoren und Inhibitoren beim Empfänger (Kujovich 2005).

**! Eine wirksame Therapie mit Plasma setzt daher eine ausreichend hohe Dosis voraus, die schnell appliziert werden muss: mindestens 10 ml/kgKG, Infusionsgeschwindigkeit 30–50 ml/min.**

Bei eingeschränkter Nierenfunktion, schweren Lebererkrankungen oder kardiopulmonaler Insuffizienz ist die Plasmadosis wegen der Gefahr der Hypervolämie limitiert. Ein klinisch relevanter Mangel an Plasmininhibitor muss mit Antifibrinolytika behandelt werden, da sich der Spiegel des Plasmininhibitors mit Plasma nicht ausreichend anheben lässt (Favier et al. 2001).

### 50.3.4 Nebenwirkungen und Kontraindikationen

Die Zitratintoxikation tritt nach Transfusion hoher Plasmadosen im Rahmen einer Massivtransfusion oder eines Plasmaaustauschs bei Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion auf und kann mit verminderter Ventrikelfunktion, Arrhythmien und erhöhter neuromuskulärer Erregbarkeit einhergehen. Da Zitrat zu Bikarbonat metabolisiert wird, beobachtet man im Verlauf einer Massivtransfusion häufiger eine schwer behandelbare metabolische Alkalose. Die Gefahr der Volumenüberladung besteht insbesondere bei Patienten mit Niereninsuffizienz, kardiopulmonaler Insuffizienz und mit Lebererkrankungen. Die Entstehung von Hemmkörpern gegen Gerinnungsfaktoren nach Plasmagabe ist sehr unwahrscheinlich. Als gefährdet müssen Patienten mit schwerem FV- oder FXI-Mangel angesehen werden, bei denen die Restaktivitäten dieser Gerinnungsfaktoren unter 1 IE/dl liegen.

Nach Transfusion von Plasmen mit hochtitrigen leukozytenreaktiven Antikörpern kann eine transfusionsassoziierte Lungeninsuffizienz (TRALI) ausgelöst werden, die mit einer hohen Mortalität einhergeht (Bux u. Sachs 2007). Das aus großen Plasmapools hergestellte SDP kann wegen der hohen Verdünnung offenbar kein TRALI auslösen (Sachs et al. 2005).

Nach Transfusion von Plasma können nichthämolytische febrile und allergische Transfusionsreaktionen auftreten. Bei Plasmaunverträglichkeit und nachgewiesenem IgA-Mangel ist Plasma kontraindiziert. Bei dem nicht seltenen hereditären IgA-Mangel (Prävalenz 1:650) können Anti-IgA-Antikörper vorliegen, die mit anaphylaktischen Reaktionen nach Applikation IgA-haltiger Blutprodukte in Verbindung gebracht wurden. Der Zusammenhang ist jedoch umstritten (Gistad 2004).

Nach Transfusion hoher Dosen AB0-minorinkompatiblen Plasmas (z. B. Transfusion von Plasma der Blutgruppe 0 bei einem Patienten der Blutgruppe A) können schwere hämolytische Transfusionsreaktionen auftreten.

### 50.3.5 Dokumentationspflicht

Für Plasma zur therapeutischen Anwendung besteht patienten- und produktbezogene Chargendokumentationspflicht gemäß § 14 Transfusionsgesetz.

## Literatur


Alexander JW, Ogle CK, Stinnet JD et al. (1979) Fresh-frozen plasma versus plasma protein derivative as adjunctive therapy for patients with massive burns. J Trauma 19: 502–511

Alvarez-Larrán A, Del Rio J, Ramírez C et al. (2004) Methylene blue-photoinactivated plasma vs. fresh-frozen plasma as replacement fluid for plasma exchange in thrombotic thrombocytopenic purpura. Vox Sang 86: 246–251

Aquilar MI, Hart RG, Kase CS et al. (2007) Treatment of warfarin-associated intracerebral hemorrhage: literature review and expert opinion. Mayo Clin Proc 82: 82–92

Atance R, Pereira A, Ramírez B (2001) Transfusing methylene blue-photoinactivated plasma instead of FFP is associated with an increased demand for plasma and cryoprecipitate. Transfusion 41: 1548–1552

Baron BW, Mittendorf R, Baron JM (2001) Presurgical plasma exchange for severe factor V deficiency. J Clin Apheresis 16: 29–30

Bell WR, Braine HG, Ness PM, Kickler TS (1991) Improved survival in thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. Clinical experience in 108 patients. N Engl J Med 325: 398–403

Bocanegra M, Bazan AA, Velarde NZ, Carpio M (1978) Clinical evaluation of the administration of large volumes of plasma in the treatment of severely burned children. Surgery 83: 558–563

Bolton-Maggs PH, Perry DJ, Chalmers EA et al. (2004) The rare coagulation disorders – review with guidelines for management from the United Kingdom Haemophilia Centre Doctors´ Organisation. Haemophilia 10: 593–628

Bolton-Maggs PHB, Colvin BT, Satchi G, Lee CA, Lucas GS (1994) Thrombogenic potential of factor XI concentrate. Lancet 344: 748–749

Borgman MA et al. (2007) The ratio of blood products transfused affects mortality in patients receiving massive transfusions at a combat support hospital. J Trauma 63: 805–813

Bux J, Sachs UJ (2007) The pathogenesis of transfusion-related acute lung injury (TRALI). Brit J Haematol 136: 788–799

Cardigan R, Allford S, Williamson L (2002) Levels of von Willebrand factor-cleaving protease are normal in methylene blue-treated fresh-frozen plasma. Br J Haematol 117: 253–254

Casbard AC, Williamson LM, Murphy MF, Rege K, Johnson T (2004) The role of prophylactic fresh frozen plasma in decreasing blood loss and correcting coagulopathy in cardiac surgery. A systematic review. Anaesthesia 59: 550–558

Caturelli E, Squillante MM, Andriulli A et al. (1993) Fine-needle liver biopsy in patients with severely impaired coagulation. Liver 13: 270–273

Chekrizova V, Murphy WG (2006) Solvent-detergent plasma: use in neonatal patients, in adult and paediatric patients with liver disease and in obstetric and gynaecological emergencies. Transfus Med 16: 85–91

De la Rubia J, Arriaga F, Linares D et al. (2001) Role of methylene blue-treated or fresh-frozen plasma in the response to plasma exchange

in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. Brit J Haematol 114: 721–723
Deorari AK, Paul VK, Shreshta L, Singh M (1995) Symptomatic neonatal polycythemia: comparison of partial exchange transfusion with saline versus plasma. Ind Pediatr 32: 1167–1171
Dupont J, Massiant F, Declerck N et al. (1996) Liver transplantation without the use of fresh frozen plasma. Anesth Analg 83: 681–686
Erber WN, Perry DJ (2006) Plasma and plasma products in the treatment of massive haemorrhage. Best Pract Res Clin Haematol 19: 97–112
Ewe K (1981) Bleeding after liver biopsy does not correlate with indices of peripheral coagulation. Dig Dis Sci 26: 388–393
Faringer PD, Mullins RJ, Johnson RL, Trunkey DD (1993) Blood Component supplementation during massive transfusion of AS-1 red cells in trauma patients. J Trauma 34: 481–487
Favier R, Aoki N, de Moerloose P (2001) Congenital α2-plasmin inhibitor deficiency: a review. Brit J Haematol 114: 4–10
Fisher NC, Mutimer DJ (1999) Central venous cannulation in patients with liver disease and coagulopathy – a prospective audit. Crit Care Med 25: 481–485
Fontana S, Kremer Hovinga JA, Lämmle B, Mansouri Taleghani B (2006) Treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. Vox Sang 90: 245–254
Friedman LS (1999) The risk of surgery in patients with liver disease. Hepatology 29: 1617–1623
Furlan M, Robles R, Morselli B, Sandoz P, Lämmle B (1999) Recovery and half-life of von Willebrand factor-cleaving protease after plasma therapy in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. Thromb Haemost 81: 8–13
Gazzard BG, Henderson JM, Williams R (1975) Early changes in coagulation following a paracetamol overdose and a controlled trial of fresh frozen plasma therapy. Gut 16: 617–620
Gistad CW (2004) Anaphylactic transfusion reactions. Curr Opin Hematol 10: 419–423
Gonzalez-Boullosa R, Ocampo-Martinez R, Alarcon-Martin MJ et al. (2005) The use of recombinant coagulation factor VII during haemarthroses and synovectomy in a patient with congenital factor V deficiency. Haemophilia 11: 167–170
Greinacher A, Kiefel V, Klüter H et al. (2007) Empfehlungen zur Thrombozytentransfusion der Thrombozyten-Arbeitsgruppe der DGTI, GTH und DGHO. Transfus Med Hemother 33: 528–543
Gross SJ, Filston HC, Anderson JC (1982) Controlled study of treatment for disseminated intravascular coagulation in the neonate. J Pediatr 100: 445–448
Hardy JF, de Moerloose P, Samama CM (2005) The coagulopathy of massive transfusion. Vox Sang 89: 123–127
Hellstern P (2004) Solvent/detergent-treated plasma: composition, efficacy, and safety. Curr Opin Hematol 11: 346–350
Hellstern P, Haubelt H (2002) Manufacture and composition of fresh frozen plasma and virus-inactivated therapeutic plasma preparations: correlation between composition and therapeutic efficacy. Thromb Res 2002 107(suppl 1): S3-S8
Hellstern P, Sachse H, Schwinn H, Oberfrank K (1992) Manufacture and in vitro characterization of solvent/detergent-treated human plasma. Vox Sang 63: 178–185
Hiippala S (1998) Replacement of massive blood loss. Vox Sang 74(suppl 2): 399–407
Hiippala ST, Myllylä GJ, Vahtera EM (1995) Hemostatic factors and replacement of major blood loss with plasma-poor red cell concentrates. Anesth Analg 81: 360–365
Johansson PI et al. (2007) Proactive administration of platelets and plasma for patients with a ruptured abdominal aortic aneurysm: evaluating a change in transfusion practice. Transfusion 47: 593–598
Kovacs M (2002) International normalised ratio and liver impairment. The Lancet 359: 695
Kujovich JL (2005) Hemostatic defects in end stage liver disease. Crit Care Med 21: 563–587
Leese T, Holliday M, Watkins M et al. (2001) A multicentre controlled trial of high-volume fresh frozen plasma therapy in prognostically severe acute pancreatitis. Ann R Coll Surg Engl 73: 207–214
Leese T, Holliday M, Heath D, Hall AW, Bell PR (1987) Multicentre clinical trial of low volume fresh frozen plasma therapy in acute pancreatitis. Brit J Surg 74: 907–911
Loirat C, Sonsino E, Hinglais N et al. (1988) Treatment of the childhood haemolytic uraemic syndrome with plasma. Pediatr Nephrol 2: 279–285
Martin RC 2nd, Jarnagin WR, Fong Y et al. (2003) The use of fresh frozen plasma after major hepatic resection for colorectal metastasis: is there a standard for transfusion? J Am Coll Surg 196: 402–409
Matsushita T, Saito H (2006) Abnormal hemostasis tests and bleeding in chronic liver disease: are they related? No, but they need a careful look. J Thromb Haemost 4: 721–723
McCall MM, Blackwell MM, Smyre JT et al. (2004) Fresh frozen plasma in the pediatric pump prime: a prospective, randomized trial. Ann Thorac Surg 77: 983–987
McVay PA, Toy PTCY (1991) Lack of increased bleeding after paracentesis and thoracentesis in patients with mild coagulation abnormalities. Transfusion 31: 164–171
McVay PA, Toy PTCY (1990) Lack of increased bleeding after liver biopsy in patients with mild hemostatic abnormalities. Am J Clin Pathol 94: 747–753
Mintz PD, Neff A, MacKenzie M et al. (2006) A randomized, controlled Phase III trial of therapeutic plasma exchange with fresh-frozen plasma (FFP) prepared with amotosalen and ultraviolet A light compared to untreated FFP in thrombotic thrombocytopenic purpura. Transfusion 46: 1693–1704
Mueller MM, Bomke B, Seifried E (2002) Fresh frozen plasma in patients with disseminated intravascular coagulation or in patients with liver disease. Thromb Res 107: S9-S17
Murray DJ, Pennell BJ, Weinstein SL, Olson JD (1995) Packed red cells in acute blood loss: dilutional coagulopathy as a cause of surgical bleeding. Anesth Analg 81: 360–365
Murray DJ, Olsson J, Strauss R, Tinker JH (1988) Coagulation changes during packed red cell replacement of major blood loss. Anesthesiology 69: 839–845
Novakova IR, van Ginneken CA, Verbruggen HW, Haaenen C (1986) Factor XI kinetics after plasma exchange in severe factor XI deficiency. Haemostasis 16: 51–56
O´Connell NM (2004) Factor XI deficiency. Semin Hematol 41: 76–81
Oliver WC, Beynen FM, Nuittall GA et al. (2003) Blood loss in infants and children for open heart operations: albumin 5% versus fresh-frozen plasma in the prime. Ann Thorac Surg 75: 1506–1512
Osborn DA, Evans N (2004) Early volume expansion for prevention of morbidity and mortality in very preterm infants. Cochrane Database Syst Rev 2: CD002005
Ozier Y, Pessione F, Samain E, Courtois F (2003) Institutional variability in transfusion practice for liver transplantation. Anesth Analg 97: 671–679
Pereira A (2004) Methylene-blue-photoinactivated plasma and its contribution to blood safety. Transfusion 44: 948–949
Raphael JC, Chevret S, Hughes RAC, Annane D (2004) Plasma exchange for Guillain-Barre syndrome (Cochrane review). The Cochrane Library, Issue 2
Reverter JC (2006) Abnormal hemostasis tests and bleeding in chronic liver disease: are they related? Yes. J Thromb Haemost 4: 717–720

Rizzoni G, Claris-Appiani A, Edefonti A et al. (1988) Plasma infusion for hemolytic-uremic syndrome in children: results of a multicenter controlled trial. J Pediatr 112: 284–290
Robert A, Chazouilleres O (1996) Prothrombin time in liver failure: time, ratio, activity percentage, or international normalized ratio? Hepatology 24: 1392–1394
Rock GA, Shumak KH, Buskard NA et al. (1991) Comparison of plasma exchange with plasma infusion in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. Canadian apheresis Study Group. N Engl J Med 325: 393–397
Runkel S, Haubelt H, Hitzler W, Hellstern P (2005) The quality of plasma collected by automated apheresis and of recovered plasma from leukodepleted whole blood. Transfusion 45: 427–432
Sachs UJ, Kauschat D, Bein G (2005) White blood cell-reactive antibodies are undetectable in solvent/detergent plasma. Transfusion 45: 1628–1631
Santagostino E, Mancuso ME, Morfini M et al. (2006) Solvent/detergent plasma for prevention of bleeding in recessively inherited coagulation disorders: dosing, pharmacokinetics and clinical efficacy. Haematologica 91: 634–639
Schiff J, Misra M, Rendon G, Rothschild J, Schwaitzberg S (2005) Laparoscopic cholecystectomy in cirrhotic patients. Surg Endosc 19: 1278–1281
Shepard KV, Bukowski RM (1987) The treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura with exchange transfusions, plasma infusions, and plasma exchange. Semin Hematol 24: 178–193
Singh Y, Sawyer LS, Pinkoski LS et al. (2006) Photochemical treatment of plasma with amotosalen and long-wavelength ultraviolet light inactivates pathogens while retaining coagulation function. Transfusion 46: 1168–1177
Solheim BG (2006) Universal pathogen-reduced plasma in elective open-heart surgery and liver resection. Clin Med Res 4: 207–217
Supapannachart S, Siripoonya P, Boonwattanasoontorn W, Kanjanavanit S (1999) Neonatal polycythemia: effects of partial exchange transfusion using fresh frozen plasma, hemaccel and normal saline. J Med Ass Thail 82(suppl 1): 82–85
Tripodi A, Salerno F, Chantarangkul V et al. (2005) Evidence of normal thrombin generation in cirrhosis despite abnormal conventional coagulation tests. Hepatology 41: 553–558
Williamson LM, Cardigan R, Prowse CV (2003) Methylene blue-treaated fresh-frozen plasma: what is its contribution to blood safety? Transfusion 43: 1322–1329
Yarranton H, Lawrie AS, Purdy G, Mackie IJ, Machin SJ (2004) Comparison of von Willebrand factor antigen, von Willebrand factor-cleaving protease and protein S in blood components used for treatment of thrombotic thrombocytopenic Purpura. Transfus Med 14: 39–44
Youssef WI, Salazar F, Dasaranthy S, Beddow T, Mullen KG (2003) Role of fresh frozen plasma infusion in correction of coagulopathy of chronic liver disease: a dual phase study. Am J Gastroenterol 98: 1391–1394



## 50.4 Faktorenkonzentrate

*P. Hellstern*



Gerinnungsfaktorenkonzentrate werden aus großen Plasmapools mithilfe physikalischer und physikochemischer Fraktionierungsverfahren oder gentechnisch hergestellt. Verfahren zur Inaktivierung und Reduzierung von transfusionsmedizinisch relevanten Viren und Prionen sowie eine Fülle von Begleitmaßnahmen zum Ausschluss von Risikospenden stellen sicher, dass Patienten und Anwender von Faktorenkonzentraten keine der früher beobachteten Infektionen fürchten müssen.

Während Prothrombinkomplexpräparate (PPSB) und Fibrinogenkonzentrate häufiger bei erworbenen als bei den selteneren angeborenen Hämostasestörungen eingesetzt werden und daher in jedem Krankenhaus mit internistischer und operativer Notaufnahme vorgehalten werden sollten, bleibt die Therapie hämorrhagischer Diathesen mit F (Faktor) VII, FVIII, FVIII-Von-Willebrand-Faktor-Komplex, FIX und FXIII zumeist klinikintergrierten, hämostaseologischen Zentren vorbehalten.

### 50.4.1 Präparate

Folgende Gerinnungsfaktorenkonzentrate sind zugelassen und stehen zur Verfügung:

- Fibrinogen,
- Prothrombinkomplex, PPSB (Prothrombin = FII; Prokonvertin = FVII; Stuart-Prower-Faktor = FX; antihämophiles Globulin B = FIX),
- Faktor VII,
- Faktor VIII,
- Faktor-VIII-Von-Willebrand-Faktor-Komplex (FVIII-vWF-Komplex)
- Faktor IX,
- Faktor XIII,
- Fibrinkleber.

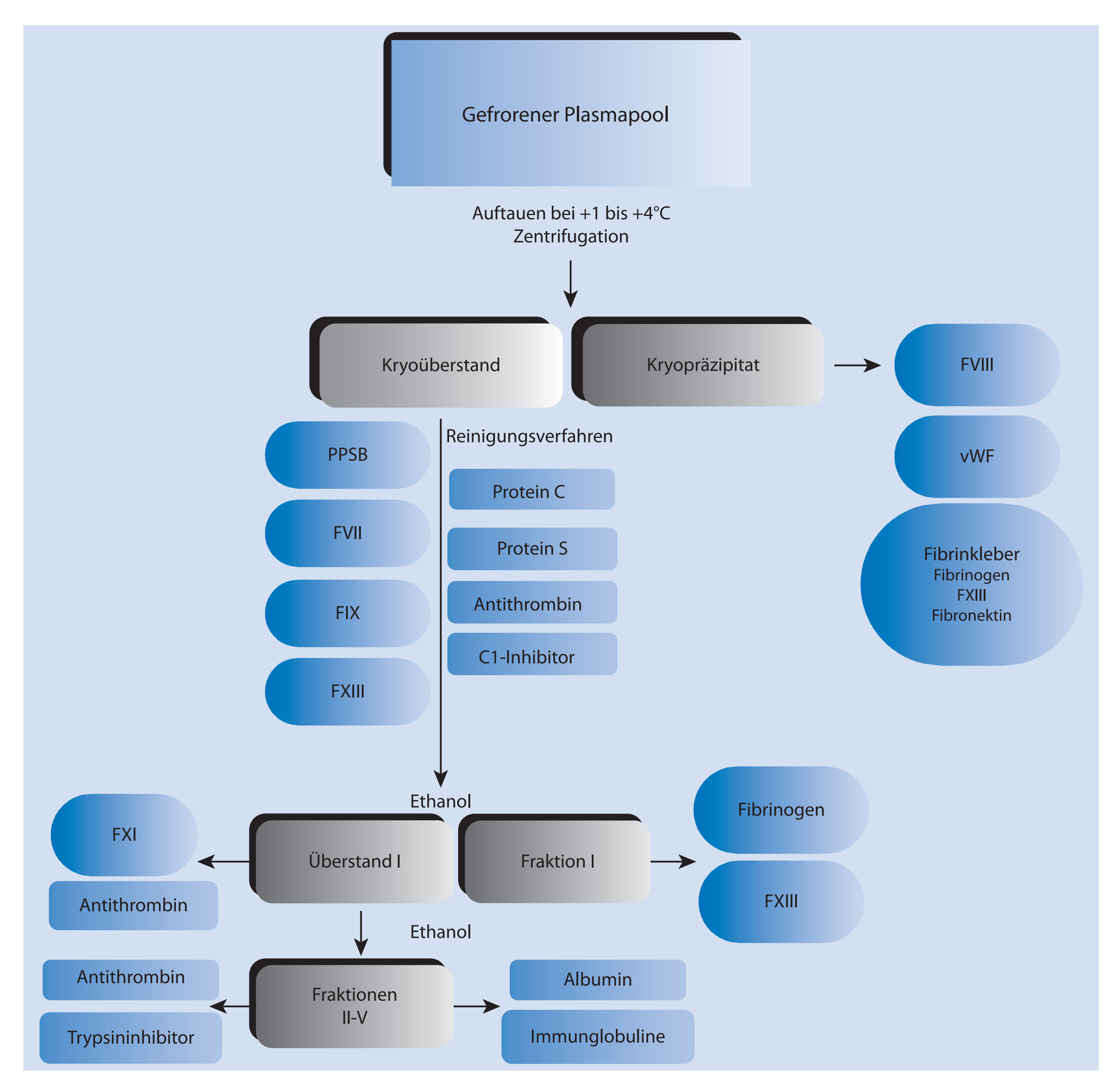
FXI-Konzentrate sind in Deutschland nicht zugelassen.

### 50.4.2 Herstellungsverfahren

Die Präparate werden überwiegend mittels Plasmafraktionierung hergestellt. Heute gebräuchliche Verfahren beruhen auf Modifikationen der bereits 1946 von Cohn und Mitarbeitern und später von Kistler und Nitschmann beschriebenen Methoden der fraktionierten Ethanolfällung bei niedrigen Temperaturen (Cohn et al. 1944; Kistler u. Nitschmann 1962). Ausgangsmaterial ist ein Plasmapool aus bis zu 50.000 Einzelspenderplasmen. Nach Tiefgefrieren und Auftauen bei niedriger Temperatur entsteht ein Niederschlag, das Kryopräzipitat, aus dem FVIII-Konzentrat, FVIII-vWF-Konzentrat und Komponenten der Fibrinkleber gewonnen werden.

Alle anderen Plasmaderivate werden unmittelbar aus dem Kryopräzipitatüberstand oder aus den Überständen und Fraktionen I bis V hergestellt, die nach Fällungsschritten mit unterschiedlichen Ethanolkonzentrationen, pH-Werten und Ionenstärken erhalten werden (◘ Abb. 50.5).

Zur Konzentrierung und Reinigung der Faktorenkonzentrate werden weitere physikochemische Verfahren in die Herstellungsprozesse eingebunden, wie z. B. Chromatographie, Elektrophorese, Gelfiltration, Adsorption und Elution. Eine Serie von Maßnahmen garantiert, dass die Fakto-




◘ **Abb. 50.5.** Vereinfachte Darstellung der Herstellung von Plasmaderivaten nach dem Prinzip der fraktionierten Ethanolfällung. *F* Faktor; *PPSB* Prothrombinkomplex; *vWF* Von-Willebrand-Faktor

renkonzentrate derzeit bekannte, transfusionsrelevante Infektionserreger und Prionen nicht übertragen (Burnouf u. Padilla 2006; Burnouf 2007; siehe Übersicht).

Mehrere gentechnisch hergestellte, rekombinante FVIII-Konzentrate (rFVIII) und ein rFIX-Konzentrat sind zur Behandlung der Hämophlie A und B zugelassen.

**Sicherheitsmaßnahmen zur Minimierung des Risikos der Übertragung transfusionsrelevanter Viren und Prionen**

- **Blut- und Plasmaspendezentrum:**
  - Ausschluss von Risikospendern mit Fragebogen: HIV, HBV, HCV, vCJD (neue Variante der Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung)
  - serologische Testung: Anti-HIV-1 und -2, Hepatitis-B-Surfaceantigen (HBsAg), Anti-HCV
  - zeitnahe Meldung positiver infektionsserologischer Befunde bei Folgespenden
  - regionaler Nachweis niedriger Prävalenzen für Infektionen mit HIV, HBV, HCV
- **Fraktionierer:**
  - Sperrlagerung: mindestens 2 Monate
  - Minipooltestung mit Nukleinsäureamplifikationstechnik (NAT): HIV, HBV, HCV, HAV, Parvovirus B19
  - Plasmapooltestung, serologisch und mit NAT: HIV, HBV, HCV, HAV, Parvovirus B19
  - Virusinaktivierung: Solvent-Detergent-Verfahren, Pasteurisierung, Dampf und Druck, trockene Hitze
  - Reduktion von Viren und Prionen: Fraktionierung, Chromatographie, Ultra- bzw. Nanofiltration

50

### 50.4.3 Indikationen

Konzentrate enthalten im Vergleich zu Plasma 20- bis 400-mal höhere Aktivitäten der betreffenden Gerinnungsfaktoren pro Milliliter und sind weitgehend oder vollständig frei von unerwünschten Begleitproteinen. Die Gefahr einer Hypervolämie und der damit verbundenen Dosisbeschränkung oder einer Kumulation unerwünschter Begleitproteine mit langer Halbwertszeit ist daher nahezu ausgeschlossen. Bei Abwesenheit spezifischer Hemmkörper gegen den betreffenden Gerinnungsfaktor lassen sich beliebig hohe Plasmaspiegel erzielen.

Dosis und Dosierintervalle orientieren sich an den hämostatisch wirksamen Mindestspiegeln, der In-vivo-Recovery (= prozentuale Wiederfindungsrate im zirkulierenden Plasmavolumen) und der biologischen Halbwertszeit des betreffenden Gerinnungsfaktors. Diese Größen hängen wiederum stark von Ausmaß und Lokalisation einer drohenden oder manifesten Blutung ab und unterliegen weiterhin größeren interindividuellen Schwankungen. Eine laboranalytische Kontrolle einer Substitutionstherapie mit Gerinnungsfaktorenkonzentraten ist daher unter den meisten klinischen Bedingungen unverzichtbar.

Eine Therapie mit Gerinnungsfaktorenkonzentraten ist indiziert, wenn:

- die Plasmaaktivitäten der betreffenden Gerinnungsfaktoren wegen manifester oder drohender schwerer Blutungen angehoben oder zumindest aufrechterhalten werden müssen und
- Plasmaaktivitäten von Gerinnungsfaktoren im Sinne einer blutungsvorbeugenden Dauerbehandlung angehoben werden müssen, um lebensbedrohende oder die Lebensqualität erheblich einschränkende Blutungen zu verhindern. Dies betrifft im Wesentlichen die schwere und mittelschwere Hämophilie A und B, die Von-Willebrand-Erkrankung Typ 3 und weitere seltene schwere hereditäre Koagulopathien, wie z. B. die Afibrinogenämie oder den schweren FXIII-Mangel.

Bei Patienten mit Hemmkörpern gegen FVIII bei Hämophilie A kann eine hochdosierte Dauerbehandlung mit FVIII-Konzentraten zur Hemmkörperelimination durch Erzeugung einer Immuntoleranz indiziert sein (Gringeri et al. 2005; Astermark et al. 2006).

Die folgenden Empfehlungen zur Anwendung von Faktorenkonzentraten werden nach den Kriterien der evidenzbasierten Medizin bewertet, die für die Leitlinien der Bundesärztekammer zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten entwickelt wurden (Greinacher 2006; ▶ Kap. 50.3).

#### Fibrinogenkonzentrate

Spiegel an gerinnbarem Fibrinogen in Höhe von 0,5 g/l gelten als ausreichend, um Spontanblutungen zu verhindern.

**! Im Rahmen von schwereren Operationen und Traumata werden posttransfusionelle Spiegel von mindestens 1,5 g/l und Mindestspiegel von 1 g/l angestrebt.**

Die biologische Halbwertszeit von Fibrinogen beträgt 3–5 Tage, kann aber bei Umsatzsteigerung durch Verbrauch oder Verlust auf wenige Stunden verkürzt sein. Fibrinogenkonzentrate sind indiziert, wenn schwere Blutungen durch niedrige Fibrinogenspiegel mitverursacht werden oder drohen (Schopgen et al. 1994; Bolton-Maggs et al. 2004; Kreuz et al. 2005; Spence u. Mintz 2005; Peyvandi et al. 2006). Dazu gehören:

- kongenitale Afibrinogenämie, Hypofibrinogenämie und Dysfibrinogenämie mit evidenter Blutungsneigung, zur Therapie spontaner Blutungen, zur Prophylaxe und Therapie postoperativer und posttraumatischer Blutungen und Wundheilungsstörungen; eine prophylaktische

Dauerbehandlung ist bei Afibrinogenämie mit häufigen Spontanblutungen oder nach zerebralen Blutungen in Betracht zu ziehen (Peyvandi et al. 2006; Evidenzgrad 1C);

- erworbene Fibrinogenmangelzustände bei Blutungen, Wundheilungsstörungen und Nahtdehiszenzen, die durch die Hypofibrinogenämie mitverursacht sein können, wenn Plasma als Fibrinogenquelle nicht ausreicht oder wegen der Gefahr der Hypervolämie nicht ausreichend dosiert werden kann (Evidenzgrad 2C):
  - Syntheseminderung bei schwerer Hepatopathie oder Therapie mit L-Asparaginase,
  - gesteigerter Verbrauch bei DIC, Sepsis, Hyperfibrinolysesyndrom, großen Wundflächen, Verbrennungen, kardiopulmonalem Bypass, durch Schlangengifte,
  - gesteigerter Verlust und Verdünnung bei schwerem Blutverlust, Massivtransfusion, Verbrennungen, exsudativer Gastroenteropathie.

### Prothrombinkomplexkonzentrate (PPSB)

PPSB-Präparate sind auf den FIX-Gehalt standardisiert und enthalten meistens weniger FVII, aber mehr FII und FX als FIX. Alle Präparate enthalten zusätzlich unterschiedliche Aktivitäten der Inhibitoren Protein C, S und Z. Zur Minderung der Thrombogenität werden kleine Mengen unfraktioniertes Heparin und/oder Antithrombin zugesetzt.

**! PPSB ist indiziert, wenn schwere Blutungen durch verminderte Spiegel funktionstüchtiger Prothrombinkomplexfaktoren verursacht oder mitverursacht werden oder drohen (Hellstern et al. 1999).**

Dazu gehören:

- Vitamin-K-Antagonismus durch orale Antikoagulanzien oder Antibiotika oder schwerer Vitamin-K-Mangel, wenn die Vitamin-K-Substitution nicht rasch genug wirkt; PPSB normalisiert den Quick-Wert (INR) schneller und effektiver als Plasma, randomisierte, kontrollierte Studien fehlen hierzu (Kessler 2006; Lankiewicz et al. 2006; Vigué et al. 2007; Evidenzgrad 1C+);
- Leberinsuffizienz, wenn Plasma wegen der Gefahr einer Volumenüberladung durch hormonelle Hochstellung des intravasalen Plasmavolumens nicht ausreichend dosiert werden kann (Mannucci et al. 1975; Gazzard et al. 1975; Lorenz et al. 2003; Evidenzgrad 2C);
- Verdünnungskoagulopathie, Verlustkoagulopathie oder disseminierte intravasale Gerinnung, wenn Plasma nicht ausreichend wirksam ist (Evidenzgrad 2C);
- sehr seltener, angeborener Mangel an Prothrombin oder FX (Evidenzgrad 1C+). Bei Patienten mit schwerem angeborenen Prothrombin- oder FX-Mangel und häufigen Blutungskomplikationen kann eine blutungsvorbeugende Dauerbehandlung mit PPSB sinnvoll sein, da keine Prothrombin- oder FX-Konzentrate verfügbar sind (Lechler 1999; Kouides u. Kulzer 2001; Bolton-Maggs et al. 2004; Lobel et al. 2004; Evidenzgrad 2C).

### FVII-Konzentrate

FVII-Konzentrate werden zur Behandlung von schweren manifesten oder drohenden Blutungen bei angeborenem FVII-Mangel eingesetzt (Lechler 1999; Bolton-Maggs et al. 2004; Evidenzgrad 1C+), in Ausnahmefällen auch zur blutungsvorbeugenden Dauerbehandlung bei schwerem angeborenem FVII-Mangel mit häufigen Blutungskomplikationen (Evidenzgrad 2C). FVII-Konzentrate haben an Bedeutung verloren, seit der angeborene FVII-Mangel mit rekombinantem aktiviertem FVIIa behandelt werden kann (Poon 2001).

### FVIII-Konzentrate

Mehrere gleichermaßen wirksame, aus Plasma hergestellte und rekombinante FVIII-Konzentrate unterschiedlicher Reinheit (spezifische Aktivität = IE FVIII/mg Protein) werden bei Patienten mit Hämophilie A in folgenden Fällen verabreicht:

- Behandlung spontaner und traumatischer Blutungen mit Ausnahme kleiner Haut- und Schleimhautblutungen und zur Verhütung von Blutungen im Rahmen von Operationen (Schimpf et al. 1977; Hoots u. Nugent 2006; Evidenzgrad 1C+);
- blutungsvorbeugende Dauerbehandlung bei Kindern und Jugendlichen mit schwerer Hämophilie A, zur Vermeidung von Arthropathien (Fischer et al. 2002; Royal et al. 2002; van den Berg et al. 2002; Steen Carlsson et al. 2003; Hoots u. Nugent 2006; Manco-Johnson et al. 2007; Evidenzgrad 1A).
- blutungsvorbeugende Behandlung, unabhängig vom Lebensalter, bei besonderen körperlichen und psychischen Belastungen, bei gefährlichen Rezidivblutungen, zur Rehabilitation und zur Vermeidung der Ausbildung späterer Arthropathien (Aledort et al. 1994; Schramm u. Scharrer 2000; Fischer et al. 2002; Carcao u. Aledort 2004; Plug et al. 2004; Evidenzgrad 1C);
- Hemmkörperelimination durch Erzeugung einer Immuntoleranz bei Patienten mit Hemmkörpern (Inhibitoren) gegen Faktor VIII, ggf. in Kombination mit einem aktivierten Prothrombinkomplexkonzentrat mit rFVIIa (Brackmann u. Gormsen 1977; Schramm u. Scharrer 2000; Gringeri et al. 2005; Astermark 2006; Evidenzgrad 1C).

### FVIII-Von Willebrand-Faktor-Konzentrate

Die aus Plasma hergestellten FVIII-vWF-Konzentrate enthalten neben FVIII einen hohen Anteil an funktionstüchtigem vWF, gekennzeichnet durch einen hohen Gehalt an Ristocetin-Kofaktor-Aktivität (vWF:RCo), Kollagenbin-

dungsaktivität (VWF:CBA) und großen Multimeren des vWF. FVIII-vWF-Konzentrate müssen bei Patienten mit angeborener oder erworbener Von-Willebrand-Erkrankung (vWE) eingesetzt werden, wenn eine Behandlung mit Desmopressin (DDAVP) nicht ausreicht oder unwirksam oder kontraindiziert ist:

- Behandlung schwerer spontaner und traumatischer Blutungen und Verhütung von Blutungen im Rahmen von Operationen (Mannucci 2004; Michiels et al. 2007; Evidenzgrad 1C+);
- blutungsvorbeugende Dauerbehandlung bei Patienten mit vWE Typ 3, zur Vermeidung von Arthropathien und anderen schweren Störungen des Bewegungsapparates, bei gefährlichen Rezidivblutungen im Bereich der Gelenke, des Gastrointestinaltrakts, des Nasen-Rachen-Raums und des Urogenitaltrakts (vornehmlich Menorrhagien), bei besonderen körperlichen und psychischen Belastungen (Mannucci 2004; Berntorp 2006; Michiels et al. 2007; Evidenzgrad 1C+).

### FIX-Konzentrate

Mehrere aus Plasma hergestellte FIX-Konzentrate und ein rekombinantes Präparat werden zur Prophylaxe und Therapie von Blutungen bei Patienten mit Hämophilie B eingesetzt. Es gelten die analogen Indikationen wie bei der Behandlung der Hämophilie A, mit der Ausnahme, dass eine langfristige, hochdosierte FIX-Substitution zur Elimination von Hemmkörpern gegen FIX nicht durchgeführt wird bzw. nicht wirksam ist (Tengborn u. Berntorp 1998).

### FXIII-Konzentrate

FXIII-Konzentrate werden zur Prophylaxe und Therapie spontaner, postoperativer und posttraumatischer Blutungen und Wundheilungsstörungen bei dem sehr seltenen schweren, homozygoten FXIII-Mangel benötigt. Im Falle einer blutungsvorbeugenden Dauerbehandlung erlauben die lange biologische Halbwertszeit von 7–13 Tagen und die niedrigen FXIII-Spiegel, die zur Verhütung von Spontanblutungen notwendig sind (3–5 IE/dl), 4-wöchige Substitutionsintervalle (Karges u. Metzner 1996; Anwar u. Miloszewski 1999; Bolton-Maggs 2004; Evidenzgrad 1C+).

Weitere Indikationen sind:

- leichter, heterozygoter FXIII-Mangel mit erhöhter Blutungsneigung, bei drohenden oder manifesten Blutungen (Egbring et al. 1988; Evidenzgrad 2C);
- Hemmkörper gegen FXIII bei Patienten ohne vorherige FXIII-Mangelzustände, in Kombination mit Immunsuppressiva (Tosetto et al. 1995; Bolton-Maggs et al. 2004; Evidenzgrad 2C);
- erworbener FXIII-Mangel, wenn Blutungen, Wundheilungsstörungen und Nahtdehiszenzen durch den FXIII-Mangel mitverursacht sein können, z. B. bei Leberzirrhose, nach kardiochirurgischen Eingriffen, bei anderen komplexen Hömostasestörungen (Gödje et al. 1998; Chandler et al. 2001; Wettstein et al. 2004; Blome et al. 2005; Gödje et al. 2005; Scharrer 2005; Evidenzgrad 2C).

### Fibrinkleber

Fibrinkleber erzeugen ein lokales, stabiles Fibringerinnsel. Komponente I enthält Fibrinogen, FXIII, Fibronektin, Aprotinin und Plasminogen, Komponente II Thrombin und Kalziumionen. Der durch Thrombin und Kalziumionen aktivierte FXIII stabilisiert das Fibringerinnsel durch Quervernetzung und Einbau von Fibronektin, Aprotinin hemmt die Fibrinolyse und verhindert die vorzeitige Lyse des Clots. Die spätere Lyse des Gerinnsels wird durch Anlagerung von Plasminogen an Fibrin begünstigt, sodass Fibrinkleber im Gegensatz zu synthetischen Klebern besser abbaubar sind.

**! Fibrinkleber werden vornehmlich bei Patienten mit Hämostasestörungen eingesetzt, einschließlich antikoagulierter Patienten, die sich chirurgischen Eingriffen unterziehen müssen oder eine lokale, eng begrenzte Blutungsquelle aufweisen oder bei denen großflächige Blutungen an parenchymatösen Organen gestillt werden müssen.**

Die meisten Studien waren restrospektiv und unkontrolliert (Schexneider 2004). In einer randomisierten, kontrollierten Studie an 50 Patienten reduzierte Fibrinkleber postoperative Blutungen nach Herniotomie signifikant (Canonico 2003; Evidenzgrad 1C).

## 50.4.4 Dosierung und Applikation

Mit Ausnahme der topisch applizierten Fibrinkleber werden Faktorenkonzentrate intermittierend langsam intravenös injiziert oder kontinuierlich infundiert. Die Aktivitäten der Gerinnungsfaktoren werden in Internationalen Einheiten (IE) angegebenen, wobei 1 IE der Gerinnungsaktivität entspricht, die in 1 ml eines Pools aus Plasmen von anscheinend Gesunden enthalten ist. Somit entsprechen 100% der Norm an Gerinnunsaktivitiät 100 IE/dl bzw. 1 IE/ml. Als Ausnahme werden die Spiegel des funktionellen, gerinnbaren Fibrinogens nicht in % der Norm bzw. IE/dl, sondern in g/l angegeben.

Die Dosierungen der verschiedenen Faktorenkonzentrate bei den jeweiligen Indikationen finden sich in den entsprechenden Kapiteln (▶ Kap. 30.4–30.7, 30.9–30.11).

Die Dosis richtet sich nach dem erwünschten Anstieg der betreffenden Gerinnungsfaktorenaktivität, dem Körpergewicht (KG) des Patienten, aus dem sich wiederum das zirkulierende Plasmavolumen annähernd kalkulieren lässt, und dem Verteilungsvolumen des betreffenden Gerinnungsfak-

tors. Letzteres wird durch die In-vivo-Recovery charakterisiert, die Wiederfindungsrate eines Gerinnungsfaktors im zirkulierenden Plasma in %, die sich wie folgt berechnet:

**In-vivo-Recovery: Anstieg des Plasmaspiegels (IE/dl bzw. % der Norm) × Plasmavolumen in ml (≈ kgKG × 40) / applizierte Dosis (IE)**

Würde sich ein Gerinnungsfaktor verlustfrei ausschließlich im zirkulierenden Plasmavolumen verteilen, betrüge die In-vivo-Recovery 100%, die Gabe von 1 IE/kgKG würde zum Anstieg des jeweiligen Gerinnungsfaktors um 2,5% führen. Tatsächlich gilt jedoch folgende Regel, sofern keine schwere Umsatzsteigerung z. B. durch schweren Blutverlust, DIC oder große Wundflächen vorliegt:

**Die Gabe von 1 IE/kgKG bewirkt einen Anstieg des Plasmaspiegels von 0,66–2% bzw. IE/dl.**

Die für einen gewünschten Anstieg des Plasmaspiegels in % der Norm bzw. IE/dl erforderliche Dosis eines Gerinnungsfaktors in IE errechnet sich somit wie folgt:

Erforderliche IE = kgKG × erwünschter Anstieg in % der Norm bzw. IE/dl × Verteilungsfaktor

Der Verteilungsfaktor beträgt für

- PPSB und FVII: ⅔
- FVIII: initial 1 und im weiteren Verlauf 0,5
- vWF: initial 1 und im weiteren Verlauf ⅔
- FIX: 1
- FXIII: 1,5 und bei Verlust oder Umsatzsteigerung, z. B. bei schwerem Blutverlust oder DIC: 1,5–3

Die für einen erwünschten Anstieg des Fibrinogenspiegels erforderliche Dosis wird wie folgt kalkuliert:

Dosis Fibrinogen [g] = erwünschter Anstieg [g/l] × Plasmavolumen [l] (≈ kgKG × 0,04) × 1,3

Im klinischen Alltag hat sich die Gabe von 3 g Fibrinogen bewährt.

FVIII-, FVIII-vWF- und FIX-Konzentrate können bei gegebener Indikation auch über mehrere Tage kontinuierlich infundiert werden, wodurch eine Reduktion der Gesamtdosis bei gleicher Wirksamkeit möglich ist. Die Dosis beginnt mit 200–500 IE/h und wird entsprechend den Ergebnissen der Laborkontrollen korrigiert (Schramm u. Scharrer 2000).

### 50.4.5 Nebenwirkungen

Allergische und anaphylaktische Reaktionen können nach Applikation aller Faktorenkonzentrate einschließlich rekombinanter Präparate auftreten und sind sehr selten. Klinische Zeichen sind Fieber, Schüttelfrost, Hitzegefühl, Urtikaria, Übelkeit, Erbrechen, Unruhe, Stridor, Tachykardie, Hypotension und Herz-Kreislauf-Versagen.

Hemmkörper gegen bestimmte Gerinnungsfaktoren treten insbesondere bei Patienten mit schweren Mangelzuständen nach entsprechender Substitution auf und sind bei Hämophilie A mit einer Prävalenz von bis zu 41% am häufigsten (Gouw et al. 2007). Eine genetische Disposition ist gesichert. Ob rekombinante oder hochgereinigte, aus Plasma hergestellte FVIII-Konzentrate das Risiko für die Bildung von Hemmkörpern gegenüber vWF-haltigen FVIII-Konzentraten aus Plasma erhöhen, ist bis dato nicht bewiesen und Gegenstand kontroverser Diskussionen (Ettingshausen u. Kreuz 2006; Gouw et al. 2007a).

PPSB-Präparate haben arterielle und venöse Thromboembolien und eine DIC ausgelöst. Obwohl derartige der Verabreichung von PPSB zugeschriebene Komplikationen seit 2002 nicht mehr auftraten (Preston et al. 2002), sollte den Anwendern dieses potenzielle Risiko bewusst bleiben.

Der geringe Gehalt an unfraktioniertem Heparin in PPSB kann eine heparininduzierte Thrombozytopenie auslösen bzw. verschlimmern.

Die verfügbaren Faktorenkonzentrate beinhalten – die Vermeidung von Fabrikationsfehlern vorausgesetzt – kein Risiko der Übertragung derzeit bekannter, transfusionsmedizinisch relevanter Viren und Prionen. Es ist jedoch nicht auszuschließen, dass die zur Vermeidung der Übertragung von Infektionserregern und Prionen angewendeten Maßnahmen (► Kap. 50.4.2, Übersicht) versagen, wenn neue, bislang unbekannte Viren und Prionen auftreten.

### 50.4.6 Dokumentationspflicht

Für alle Faktorenkonzentrate einschließlich der gentechnisch hergestellten Präparate besteht patienten- und produktbezogene Chargendokumentationspflicht gemäß § 14 Transfusionsgesetz.

## Literatur

Aledort LM, Haschmeyer R, Petterson H and the Orthopaedic Outcome Study Group (1994) A longitudinal study of orthopaedic outcomes for severe factor VIII-deficient haemophiliacs. J Intern Med 236: 391–399

Anwar R, Miloszewski KJA (1999) Factor XIII deficiency. Brit J Haematol 107: 468–484

Astermark J, Morado M, Rocino A et al. (2006) Current European practice in immune tolerance induction therapy in patients with haemophilia and inhibitors. Haemophilia 12: 363–371

Berntorp E (2006) Prophylaxis and treatment of bleeding complications in von Willebrand disease type 3. Semin Thromb Hemost 32: 621–625

Blome M, Isgro F, Kiessling AH et al. (2005) Relationship between factor XIII activity, fibrinogen, haemostasis screening tests and postoperative bleeding in cardiopulmonary bypass surgery. Thromb Haemost 93: 1101–1107

Bolton-Maggs PHB, Perry DJ, Chalmers EA et al. (2004) The rare coagulation disorders – review with guidelines for management from the United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organisation. Haemophilia 10: 593–628

Bolton-Maggs PH, Wensley RT, Kernoff PBA et al. (1992) Production and therapeutic use of a factor XI concentrate from plasma. Thromb Haemost 67: 314–319
Brackmann HH, Gormsen J (1977) Massive factor VIII infusion in haemophilic patients with factor VIII inhibitor, high responder. Lancet 2: 933
Bregenzer N, Caesar I, Andus T et al. (1999) Lack of clinical efficacy of additional factor XIII treatment in patients with steroid refractory colitis. Z Gastroenterol 37: 999–1004
Bryant BJ, Klein HG (2007) Pathogen inactivation. The definitive safeguard for the blood supply. Arch Pathol Lab Med 131: 719–733
Burnouf T (2007) Modern plasma fractionation. Transfus Med Rev 21: 101–117
Burnouf T, Padilla A (2006) Current strategies to prevent transmission of prions by human plasma derivatives. Transfus Clin Biol 13: 320–328
Burnouf-Radosevich M, Burnouf T (1992) A therapeutic highly purified factor XI concentrate from human plasma. Transfusion 32: 861–856
Canonico S (2003) The use of human fibrin glue in the surgical operations. Acta Bio Medica 74(Suppl 2): 21–25
Carcao MD, Aledort L (2004) Prophylactic factor replacement in hemophilia. Blood Rev 18: 101–113
Chandler WL, Patel MA, Gravelle L et al. (2001) Factor XIIIa and clot strength after cardiopulmonary bypass. Blood Coagul Fibrinolysis 12: 101–108
Cohn EJ, Oncley JL, Strong LE, Hughes WL, Armstrong SH (1944) Chemical, clinical and immunological studies on the products of human plasma fractionation. I. The characterization of the protein fractions of human plasma. J Clin Invest 23: 417–432
Desmesmay K, Tissot E, Bulabois CE et al. (2002) Factor XIII replacement in stem-cell transplant recipients with severe hemorrhagic cystitis: a report of four cases. Transplantation 74: 1190–1192
Egbring R, Seitz R, Gürten GV et al. (1988) Bleeding complicatins in heterozygotes with congenital factor XIII deficiency. In: Mossesson ME et al. (eds) Fibrinogen 3. Biochemistry, biological functions, gene regulation and expression. Amsterdam: Elsevier 341–346
Ettingshausen CE, Kreuz W (2006) Recombinant vs. plasma-derived products, especially those with intact VWF, regarding inhibitor development. Haemophilia 12(Suppl 6): 102–106
Fischer K, van der Bom JG, Molho G et al. (2002) Prophylactic versus on-demand treatment strategies for severe haemophilia: a comparison of costs and long-term outcome. Haemophilia 8: 745–752
Gazzard BG, Henderson JM, Williams R (1975) The use of fresh frozen plasma or a concentrate of factor IX as replacement therapy before liver biopsy. Gut 621–625
Greinacher A, Kiefel V, Klüter H, Kroll H, Pötzsch B, Riess H (2006) Empfehlungen zur Thrombozytentransfusion der Thrombozyten-Arbeitsgruppe der DGTI, GTH und DGHO. Transfus Med Hemother 33: 528–543
Gringeri A, Mannucci PM, Italian Association of Haemophilia Centres (2005) Italian guidelines for the diagnosis and treatment of patients with haemophilia and inhibitors. Haemophilia 11: 611–619
Gödje O, Gallmeier U, Schelian M, Grünewald M, Mair H (2005) Coagulation factor XIII reduces postoperative bleeding after coronary surgery with extracorporeal circulation. Thorac Cardiovasc Surg 54: 26–33
Gödje O, Haushofer M, Lamm P, Reichart B (1998) The effect of factor XIII on bleeding in coronary surgery. Thorac Cardiovasc Surg 46: 263–267
Gouw SC, van der Bom JG, Marijke van den Berg H (2007a) Treatment-related risk factors of inhibitor development in previously untreated patients with hemophilia A: the CANAL cohort study. Blood 109: 4648–4654
Gouw SC, van der Bom JG, Auerswald G et al. (2007b) Recombinant versus plasma-derived factor VIII products and the development of inhibitors in previously untreated patients with severe hemophilia A: the CANAL cohort study. Blood 109: 4693–4697
Hellstern P, Halbmayer WM, Köhler M, Seitz R, Müller-Berghaus G (1999) Prothrombin complex concentrates: indications, contraindications, and risks: a task force summary. Thromb Res 95(Suppl 1): S3–S6
Hoots WK, Nugent DJ (2006) Evidence for the benefits of prophylaxis in the management of hemophilia A. Thromb Haemost 96: 433–440
Julien D, Souillet HL, Faure M, Claudy A (1998) Coagulation factor XIII in scleroderma. Eur J Dermatol 8: 231–234
Karges HE, Metzner HJ (1996) Therapeutic factor XIII preparations and perspectives for recombinant factor XIII. Semin Thromb Hemost 22: 427–436
Kessler CM (2006) Urgent reversal of warfarin with prothrombin complex concentrate: where are the evidence-based data? J Thromb Haemost 4: 963–966
Kistler P, Nitschmann H (1962) Large-scale production of human plasma fractions. Eight years experience with the alcohol fractionation procedure of Nitschmann, Kistler and Lergier. Vox Sang 7: 414–424
Kouides PA, Kulzer L (2001) Prophylactic treatment of severe factor X deficiency with prothrombin complex concentrate. Haemophilia 7: 220–223
Kreuz W, Meili E, Peter-Salonen K et al. (2005) Efficacy and tolerability of a pasteurised human fibrinogen concentrate in patients with congenital fibrinogen deficiency. Transfus Apheresis Sci 32: 247–253
Lankiewicz MW, Hays J, Friedman KD, Tinkoff G, Blatt PM (2006) Urgent reversal of warfarin with prothrombin complex concentrate. J Thromb Haemost 4: 967–970
Lechler E (1999) Use of prothrombin complex concentrates for prophylaxis and treatment of bleeding episodes in patients with hereditary deficiency of prothrombin, factor VII, factor X, protein C, protein S, or protein Z. Thromb Res 95(Suppl 1): S39-S50
Lobel JS, Majumdar S, Kovats-Bell S (2004) Successful prophylactic treatment for bleeding in a girl with severe hereditary prothrombin deficiency using a prothrombin complex concentrate (Bebulin® VH). J Pediatr Hematol Oncol 26: 480–483
Lorenz R, Kienast R, Otto U et al. (2003) Efficacy and safety of a prothrombin complex concentrate with two virus-inactivation steps in patients with severe liver damage. Eur J Gastroenterol Hapatol 15: 15–20
Lorenz R, Olbert P, Born P (1996) Factor XIII in chronic inflammatory bowel disease. Sem Thromb Hemost 22: 451–455
Manco-Johnson MJ, Abshire TC, Shapiro AD et al. (2007) Prophylaxis versus episodic treatment to prevent joint disease in boys with severe hemophilia. N Engl J Med 357: 535–544
Mannucci PM (2004) Treatment of von Willebrand´s disease. N Engl J Med 351: 683–694
Mannucci PM, Franchi F, Dioguardi N (1976) Correction of abnormal coagulation in chronic liver disease by combined use of fresh-frozen plasma and prothrombin complex concentrates. Lancet 2: 542–545
Michiels JJ, van Vliet HH, Berneman Z et al. (2007) Intravenous DDAVP and factor VIII-von Willebrand factor concentrate for the treatment and prophylaxis of bleedings in patients with von Willebrand disease types 1, 2 and 3. Clin Appl Thromb Hemost 13: 14–34
Peyvandi F, Haertel S, Knaub S, Mannucci PM (2006) Incidence of bleeding symptoms in 100 patients with inherited afibrinogenemia of hypofibrinogenemia. J Thromb Haemost 4: 1634–1637
Plug I, van der Bom JG, Peters M et al. (2004) Thirty years of hemophilia treatment in the Netherlands, 1972–2001. Blood 104: 3494–3500
Poon MC (2001) Use of recombinant factor VIIa in hereditary bleeding disorders. Curr Opin Hematol 8: 312–318

Preston FE, Laidlaw ST, Sampson B, Kitchen S (2002) Rapid reversal of oral anticoagulation with warfarin by a prothrombin complex concentrate (Beriplex): efficacy and safety in 42 patients. Brit J Haematol 116: 619–624

Royal S, Schramm W, Berntorp E et al. (2002) Quality-of-life differences between prophylactic and on-demand factor replacement therapy in European haemophilia patients. Haemophilia 8: 44–50

Scharrer I (2005) Leberzirrhose und Gerinnungsstörungen. Hämostaseologie 25: 205–208

Schexneider KI (2004) Fibrin sealants in surgical or traumatic hemorrhage. Curr Opin Hematol 11: 232–326

Schimpf K, Fischer B, Rothmann P (1977) Hemophilia A prophylaxis with factor VIII concentrate in a home-treatment program: a controlled study. Scand J Haematol Suppl 30: 79–80

Schopgen G, Bonik K, Rosenkranz G (1994) Fibrinogensubstitution mit Haemocomplettan HS. Hämostaseologie 14: 140–148

Schramm W, Scharrer I (2000) Konsensus Empfehlungen zur Hämophiliebehandlung in Deutschland. GTH Hämophiliekommission, update 1999. Hämophilieblätter 34: 62–65

Spence RK, Mintz PD (2005) Transfusion in trauma, surgery and critical care. In: Mintz PD (ed) Transfusion therapy. Bethesda: AABB Press, p 203–241

Steen Carlsson K, Hojgard S, Glomstein A et al. (2003) On-demand vs. prophylactic treatment for severe haemophilia in Norway and Sweden. Haemophilia 9: 555–566

Tengborn L, Berntorp E (1998) Continuous infusion of factor IX concentrate to induce immune tolerance in two patients with haemophilia B. Haemophilia 4: 56–59

Tosetto A, Rodeghiero F, Gatto E, Manotti C, Poli T (1995) An acquired hemorrhagic disorder of fibrin crosslinking due to IgG antibodies to FXIII, successfully treated with FXIII replacement and cyclophophamide. Am J Hematol 48: 34–39

Van den Berg HM, Fischer K, van der Bom JG, Rosendaal G, Mauser-Bunschoten EP (2002) Effects of prophylactic treatment regimens in children with severe haemophilia: a comparison of different strategies. Haemophilia 8(Suppl 2): 43–46

Venturi C, Zendri E, Santini M et al. (2004) Sceredema of Buschke: remission with factor XIII treatment. Int J Tiissue React 26: 25–28

Vigué B, Ract C, Tremey B et al. (2007) Ultra-rapid management of oral anticoagulant therapy-related surgical intracranial hemorrhage. Intensive Care Med 33: 721–725

Wettstein P, Haeberli A, Stutz M et al. (2004) Decreased factor XIII availability for thrombin and early loss of clot firmness in patients with unexplained intraoperative bleeding. Anesth Analg 99: 1564–1569

## 50.5 Aktivierte Gerinnungsfaktoren

*C. von Heymann*



### Einleitung

Die derzeit auf dem deutschen Markt zugelassenen aktivierten Gerinnungsfaktoren sind rekombinanter aktivierter Faktor VII (rFVIIa) und aktiviertes Prothrombinkomplexpräparat (FEIBA = »factor eight inhibitor bypassing activity«). Rekombinanter aktivierter Faktor VII ist als NovoSeven® (NovoNordisk, Bagsvard, Dänemark) erhältlich und enthält als einzigen Gerinnungsfaktor aktivierten Faktor VII. Die Produktion basiert auf einer mit humanem FVII-Gen transfizierten Babyhamster-Nierenzellbank. Der Herstellungsprozess unterläuft mehrere Reinigungs- und Virusinaktivierungsschritte, während dessen eine Autoaktivierung von rFVII zu rFVIIa eintritt. Seit Beginn 2009 ist raumtemperaturstabiler (bis max. 25°C) rFVIIa auf dem Markt verfügbar, welches für 2 Jahre haltbar ist.

Das aktivierte Prothrombinkomplexpräparat, welches als FEIBA NF® (Baxter BioScience) auf dem deutschen Markt angeboten wird, enthält die aktivierten Faktoren II, VII, IX und X und wird aus dem Kryopräzipitat von humanem Spenderplasma hergestellt. Die primär im Spenderplasma nicht aktiviert vorliegenden Faktoren II, VII, IX und X werden durch Oberflächenkontakt aktiviert.

### 50.5.1 Rekombinanter aktivierter Faktor VII (rFVIIa)

#### Wirkmechanismus

Das Modell der zellbasierten Hämostase erklärt die physiologische Bedeutung von aktiviertem Faktor VII und den Wirkmechanismus von rFVIIa (Hoffman u. Monroe 2001). Dieses Modell der physiologischen Gerinnung differenziert sich in unterschiedliche Schritte:

1. Wird durch eine Verletzung der physiologischen endothelialen Barriere subendotheliales Gewebe mit Gewebefaktor (Tissue Factor = TF) freigelegt, erfolgt die Bildung eines Komplexes aus FVIIa und TF und damit die Aktivierung des Gerinnungssystems. Der Komplex aus TF-FVIIa aktiviert FX und seinen Kofaktor FV zu FXa und FVa, die als Prothrombinasekomplex Prothrombin zu Thrombin aktivieren.

2. Thrombin aktiviert die am Ort der Verletzung adhärenten Thrombozyten und ferner die Faktoren IX, XI und XIII sowie die Kofaktoren V und VIII.
3. Die aktivierten Gerinnungsfaktoren binden an Phospholipidstrukturen auf der Oberfläche der Thrombozyten und induzieren durch eine schrittweise Aktivierung von zunächst FX (Tenasekomplex, FVIIIa und FIXa) und dann Prothrombin (Prothrombinasekomplex) die Bildung einer großen Menge Thrombin (»thrombin burst«). Dies führt zur Bildung eines stabilen Fibringerinnsels, welches durch parallel aktivierten FXIII und thrombinaktivierbaren Fibrinolyseinhibitor (TAFI) stabilisiert und gegen fibrinolytischen Abbau geschützt wird.



### Therapeutische Gabe von rFVIIa

Unter physiologischen Bedingungen zirkulieren nur Spuren von FVIIa und TF im Blut, sodass es zu keiner nennenswerten Gerinnungsaktivierung kommt. Die therapeutische Gabe von rFVIIa erhöht die FVIIa-Konzentration kurzfristig auf ein Vielfaches der normalen physiologischen Konzentration. Dies ermöglicht, dass TF mit FVIIa komplexieren kann, was eine auf den Ort der Verletzung begrenzte Aktivierung des Gerinnungssystems bewirkt.

Das Anheben der rFVIIa-Konzentration auf supraphysiologische Spiegel, die eher als »pharmakologische« Therapie und nicht als Substitutionsbehandlung eines mangelnden Gerinnungsfaktors angesehen werden muss, ist die Voraussetzung, dass rFVIIa mit geringerer Affinität an aktivierte Thrombozyten anbindet und hier unabhängig von der Anwesenheit von TF, FVIIIa und FIXa die Aktivierung von FX zu FXa einleitet. Infolgedessen kann eine Thrombinbildung auch bei Mangel an Faktor-IXa-VIIIa-Komplex oder Faktor-Va-Xa-Komplex eingeleitet werden. Da FVIIa eine nur geringe Affinität zu aktivierten Thrombozyten aufweist, ist eine supraphysiologische (»pharmakologische«) Dosierung von rFVIIa erforderlich, um eine Bindung an Thrombozyten mit nachfolgendem »thrombin burst« zu induzieren.

Die Tatsache, dass FVIIa nahezu keine Affinität zu ruhenden Thrombozyten hat, könnte erklären, dass supraphysiologische Dosen von rFVIIa keine relevante systemische Gerinnungsaktivierung verursachen (Jurlander et al. 2001; Hedner u. Erhardtsen 2002).

### Indikationen, Dosierung und Applikation

#### Hemmkörperhämophilie

In Deutschland ist rFVIIa seit 1996 für die Behandlung der Hemmkörperhämophilie A und B sowie seit 2004 für die Behandlung der Thrombasthenie Glanzmann und des kongenitalen FVII-Mangels zugelassen.

In der Behandlung der Hemmkörperhämophilie werden eine Initial- und Erhaltungsdosis von 90 µg/kgKG empfohlen. Aufgrund der kurzen Halbwertszeit von rFVIIa sind Behandlungsintervalle von 2–3 h (in Einzelfällen auch kürzer) erforderlich, um eine rasche Blutstillung zu erzielen.

Falls eine Fortführung der Therapie erforderlich sein sollte, können die Behandlungsintervalle, solange eine Weiterbehandlung angezeigt ist, sukzessive auf 4–12 h erhöht werden (Hay et al. 1997; Lusher et al. 1998; Shapiro et al. 1998). Bei Kindern kann aufgrund der höheren Clearance als bei Erwachsenen (Villar et al. 2004) eine höhere Dosis notwendig sein (vgl. Übersicht).

**Dosierung von rFVIIa zur Therapie der Hemmkörperhämophilie**

- **Erwachsene:** Die empfohlene Dosis beträgt 90 (bis 120) µg/kgKG als Bolus in einem 2- bis 3-stündigen Zeitintervall bis zum Sistieren der Blutung.
- **Alternativ:** Die Hochdosistherapie mit einer einmaligen Gabe von 270 µg/kgKG rFVIIa ist für Erwachsene seit 2008 in Deutschland zugelassen (Young et al. 2008).
- **Kinder:** Aufgrund der kürzeren Halbwertszeit von rFVIIa (1,3–1,4 h vs. 2,3–2,9 h; Villar et al. 2004) kann eine Erhöhung der Bolusdosis auf 270 µg/kgKG erforderlich werden, welche die zur Blutstillung erforderliche Anzahl von niedriger dosierten Boli reduzieren kann (Kavakli et al. 2006; Santagostino et al. 2006).

#### Erworbene Hemmkörperhämophilie

Die erworbene Hemmkörperhämophilie ist eine seltene Erkrankung, bei der spontan Autoantikörper meist gegen FVIII oder FIX auftreten. Risikogruppen mit der höchsten Inzidenz sind Frauen in der postpartalen Phase und Menschen zu Beginn der siebten Lebensdekade. Die Inzidenz ist mit 0,2–1 pro 1.000.000 Patienten gering, aber die Mortalität mit bis zu 22% erheblich (Franchini et al. 2006).

Bei Auftreten von spontanen Blutungen oder flächenhafter subkutaner und/oder muskulärer Einblutungen ist der richtungsweisende Laborbefund eine verlängerte APTT und in der weiteren Abklärung ein positiver Plasmatauschtest. Die Diagnostik dieser Erkrankung ist erschwert durch die Tatsache, dass bei Fehlen klinischer Symptome nur die verlängerte APTT als richtungsweisende Labordiagnostik besteht, welche v. a. in Notfallsituationen oder in der perioperativen Phase das Risiko birgt, fehlinterpretiert oder nicht erkannt zu werden. Für das Outcome der Patienten ist die rasche Diagnosestellung und Einleitung einer adäquaten Therapie entscheidend.

**Cave**

Ein besonderes Risiko besteht in der operativen Medizin, wenn die Therapie nicht vor dem operativen Eingriff eingeleitet und die erhöhte APTT mit gerinnungsaktivem Frischplasma (FFP) behandelt wurde, welches eine Boosterung der Autoantikörper mit Verschlechterung der Gerinnungssituation bewirkt (Abshire u. Kenet 2004).

Die Initialtherapie bei Blutungen bzw. vor Operationen besteht in der Gabe von hoch dosiertem humanem FVIII-Konzentrat bzw. rFVIIa in der Dosis für Patienten mit angeborener Hämophilie (90–120 µg/kg alle 2–3 h).

### Thrombasthenie Glanzmann

Die Thrombasthenie Glanzmann (TG) ist gekennzeichnet durch einen dysfunktionalen oder fehlenden Glykoprotein-IIb-IIIa-Rezeptor auf der Thrombozytenoberfläche, was eine schwere Thrombozytenaggregations- und Gerinnselretraktionsstörung verursacht. Speziell für TG-Patienten, die bereits Antikörper gegen GP-IIb-IIIa-Rezeptoren aufweisen und damit als refraktär gegen Thrombozytenkonzentrate gelten, bzw. für Patienten, bei denen eine Autoantikörperbildung verhindert werden soll, ist eine alternative Therapie erforderlich. Für diese Indikation wird rFVIIa in einer 3-maligen Bolusgabe (80–120 µg/kgKG) im Abstand von 2 h empfohlen (Poon 2007).

Auch bei anderen angeborenen Thrombozytopathien (z. B. Bernard-Soulier-Syndrom, »storage pool disease«) ist rFVIIa erfolgreich in einer Dosierung von 90–120 µg/kgKG als Bolus eingesetzt worden. Wiederholungsdosen können bei einzelnen Patienten erforderlich sein (Almeida et al. 2003; Virchis et al. 2004).

### Angeborener Faktor-VII-Mangel

Der angeborene FVII-Mangel ist eine seltene Koagulopathie und zeigt eine heterogene Blutungsneigung, die nicht linear aus der FVII-Restaktivität abgeleitet werden kann. Jedoch weisen aller Erfahrung nach homozygot erkrankte Patienten mit einer FVII-Aktivität <2% eine schwere klinische Blutungsneigung auf (Mariani et al. 2006). Im Unterschied zur pharmakologischen Therapie bei Hemmkörperhämophilie wird beim FVII-Mangel die Gabe von rFVIIa als Substitution eines fehlenden Gerinnungsfaktors betrachtet, sodass wesentlich geringere Dosierungen für die Blutstillung notwendig sind.

**! Dosierung: Bei Aktivitäten <10% und klinischen Blutungszeichen sollte rFVIIa in einer Dosis von 15–30 µg/kgKG alle 6 h als Bolus verabreicht werden, bis die Blutung sistiert. Der Zeitabstand zum nächsten Bolus kann im Verlauf der Therapie abhängig von der Blutungssymptomatik verlängert werden (Vorstand und wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer 2003; Ingerslev et al. 1997; Mariani et al. 2006).**

Auch bei Faktor-VII-Aktivitäten zwischen 10 und 30% mit einhergehender Blutung oder prophylaktisch bei positiver Blutungsanamnese ist die Gabe von rFVIIa in einer Dosierung von 15–30 µg/kgKG alle 6 h als Bolus zu empfehlen.

Bei Patienten mit hohem Blutungsrisiko kann rFVIIa auch prophylaktisch verabreicht werden.

#### Nicht indikationsgeschützte Einsatzgebiete

In einer Vielzahl von klinischen Situationen ist rFVIIa erfolgreich zur Therapie refraktärer Blutungen eingesetzt worden. Dieser Einsatz ist als »off label use« anzusehen und nicht durch eine zugelassene Indikation geschützt. Unterschiedliche noch nicht zugelassene Indikationen sind in der Vergangenheit in prospektiven Studien untersucht worden bzw. befinden sich gerade in klinischer Prüfung (Levy et al. 2006).

### Spontane intrazerebrale Blutung

In einer randomisierten, placebokontrollierten Studie bei spontanen intrazerebralen Blutungen wurde eine signifikante Reduktion der 30-Tage-Mortalität und eine Verbesserung des neurologischen Status nach einer rFVIIa-Bolusgabe von 40, 80 oder 160 mg/kgKG festgestellt (Mayer et al. 2005). Thromboembolische Ereignisse als gemeinsamer Endpunkt betrachtet traten bei 7 mit rFVIIa behandelten Patienten versus 2 Patienten in der Placebogruppe auf (p=0,12). Eine bislang noch nicht publizierte Nachfolgestudie konnte jedoch keinen Unterschied in der 90-Tage-Mortalität nachweisen, sodass eine Zulassung des Medikaments für diese Indikation als unwahrscheinlich gelten kann.

### Traumaassoziierte Blutungen

In einer placebokontrollierten Phase-II-Studie wurde der Effekt von rFVIIa in einer Dosis von 200 µg/kgKG, gefolgt von 2 weiteren Bolusgaben à 100 µg/kgKG nach 1 und 3 h bei schweren traumatischen Blutungen untersucht. Nach stumpfem Trauma wurde eine signifikante Reduktion des Bedarfs an Erythrozytenkonzentraten, der Häufigkeit von Massivtransfusionen und der Inzidenz eines »adult respiratory distress syndrome« (ARDS, Lungenversagen) im Vergleich zu Placebo beschrieben (Boffard et al. 2006). Eine Nachfolgestudie wurde jedoch vorzeitig beendet, sodass Stellenwert, Timing und Dosis von rFVIIa in der traumaassoziierten Blutung weiterhin unklar sind.

Thromboembolische Ereignisse und andere unerwünschte Wirkungen traten unter rFVIIa und Placebo gleich häufig auf. In einer europäischen Empfehlung zum Einsatz von rFVIIa wird als Voraussetzung für die Gabe von

rFVIIa bei Traumapatienten ein Fibrinogenwert von ≥50 (besser ≥100) mg/dl, eine Thrombozytenzahl ≥50.000 (besser ≥100.000) × $10^9$/L und einen pH-Wert ≥7,2 vertreten (Spahn et al. 2007).

### Postpartale Blutungen

Postpartale Blutungen stellen durch ihre lebensbedrohliche Intensität, die in Notfällen nur durch eine Hysterektomie erfolgreich behandelt werden kann, eine besondere klinische Situation dar.

> **! In einer Reihe von Fallserien konnte die Gabe von rFVIIa gegenüber einer Standardtherapie refraktäre Nachblutungen stillen (Hollnberger et al. 2005) bzw. die Blutungsneigung reduzieren bis eine arterielle Embolisation die definitive Blutstillung erzielte (Ahonen u. Jokela 2005).**



Bei 5 von 15 Patientinnen aus beiden Fallserien wurde eine Hysterektomie zur Kontrolle der Blutung erforderlich, während bei 4 von 15 Patientinnen eine selektive Angiographie und Embolisation zur Blutstillung durchgeführt wurde. Die Bolusdosierungen betrugen 20–120 µg/kgKG, es waren 1–2 Boli erforderlich.

### Leberchirurgie und Lebertransplantation

Leberteilresektionen sowie Lebertransplantationen gehen regelhaft mit der Gabe von Blutprodukten einher, sodass die Frage nach medikamentöser Verbesserung der Hämostase und Vermeidung von Blutprodukten aus medizinischer Sicht gerechtfertigt erscheint. Die prophylaktische Gabe von 20 und 80 µg/kgKG rFVIIa wurde bei Leberteilresektionen in einer placebokontrollierten, randomisierten Studie untersucht (Lodge et al. 2005). Der primäre Zielparameter war der perioperative Bedarf an Erythrozytenkonzentraten und der intraoperative Blutverlust. Die prophylaktische Administration von rFVIIa führte in keiner der verwendeten Dosierungen zu einer signifikanten Reduktion des Blutverlustes (1.422 ml für Placebo, 1.372 ml mit 20 µg/kgKG rFVIIa und 1.073 ml mit 80 µg/kgKG rFVIIa (p = 0,07). Auch die Anzahl transfundierter Patienten konnte nicht reduziert werden (37% in der Placebogruppe, 41% in der Gruppe mit 20 µg/kgKG und 25% in der Gruppe mit 80 µg/kgKG), ebenso wenig der mittlere Erythrozytenkonzentratbedarf pro Patient.

Nicht ganz zu Unrecht wurde das Design der Studie kritisiert, welches die Gabe von rFVIIa vor Hautschnitt vorsah, sodass zum Zeitpunkt des größten Blutverlusts (während der Leberparenchymdissektion, die in der Regel 2–2,5 h nach Hautschnitt durchgeführt wird) keine ausreichenden Wirkspiegel von rFVIIa mehr bestanden haben dürften.

Bei orthotoper Lebertransplantation wurde in einem randomisierten kontrollierten Studiendesign die prophylaktische Gabe von 60 und 120 µg/kgKG rFVIIa gegen Placebo in Hinsicht auf den postoperativen Transfusionsbedarf untersucht (Lodge et al. 2005). Der Transfusionsbedarf in den rFVIIa-Gruppen war nicht unterschiedlich zu dem der Placebogruppe (p jeweils >0,05):

- Erythrozytenkonzentrate: 8,2 in der Placebogruppe, 7,0 in der Gruppe mit 60 µg/kg rFVIIa und 6,3 in der Gruppe mit 120 µg/kg rFVIIa;
- FFP: 11,0 in der Placebogruppe, 9,4 in der Gruppe mit 60 µg/kg rFVIIa und 11,9 in der Gruppe mit 120 µg/kg rFVIIa;
- Thrombozytenkonzentrate: 141,7 ml in der Placebogruppe, 81,7 ml in der Gruppe mit 60 µg/kg rFVIIa und 170,6 ml in der Gruppe mit 120 µg/kg rFVIIa.

Thromboembolische Komplikationen waren nicht unterschiedlich zwischen den Studiengruppen (10 in der Placebogruppe, 19 in der Gruppe mit 60 µg/kg rFVIIa und 12 in der Gruppe mit 120 µg/kg rFVIIa). Lediglich die Anzahl der Patienten, die nicht transfundiert wurden, war in der rFVIIa-Gruppe signifikant geringer (Placebo: 0/61, 60 µg/kg rFVIIa: 6/62 und 120 µg/kg rFVIIa: 4/56, p=0,0331).

### Postoperative Blutungen in der Herzchirurgie

Nach herzchirurgischen Operationen treten bei 3–5% der Patienten Blutungen auf, die eine operative Revision erfordern (Moulton et al. 1996). Diese hohe Blutungsneigung hat mit den komplexen Veränderungen des Gerinnungssystems nach Anschluss an die extrakorporale Zirkulation (HLM = Herz-Lungen-Maschine) zu tun und ist mit einem hohen Verbrauch an Fremdblutprodukten verbunden.

Die Prophylaxe und Therapie refraktärer Blutungen nach herzchirurgischen Operationen mit rFVIIa ist bislang nur in wenigen kontrollierten Studien untersucht worden: Ekert und Mitarbeiter (2006) untersuchten in einer prospektiven randomisierten und placebokontrollierten Studie den Effekt einer prophylaktischen Gabe von 40 µg/kgKG nach Abgang von der HLM auf die Zeit bis zum Thoraxverschluss und den Transfusionsbedarf nach kinderherzchirurgischen Operationen. Die Zeit bis zum Thoraxverschluss war in der rFVIIa-Gruppe mit 98,8 vs. 55,3 min in der Placebogruppe signifikant länger (p=0,026). Der Transfusionsbedarf während und nach der Operation war zwischen den Gruppen nicht unterschiedlich (p=0,15 und p=0,45). Nebenwirkungen und thromboembolische Komplikationen waren nicht unterschiedlich zwischen den Studiengruppen.

In der Erwachsenenherzchirurgie liegen bislang aus einer Studie prospektiv randomisierte Daten vor. Diprose und Mitarbeiter (2005) untersuchten 20 Patienten, die sich einem komplexen kardiochirurgischen Eingriff ohne aortokoronaren Bypass unterzogen. Im Rahmen eines prädefinierten Studienprotokolls wurden die Patienten mit einer einmaligen Dosis von 90 µg/kg rFVIIa oder Placebo behandelt. In der Intention-to-Treat-(ITT-)Analyse wurden 3

Patienten in der rFVIIa-Gruppe und 8 in der Kontrollgruppe transfundiert (p=0,07) bei einem Blutverlust von im Median 330 ml (185–855 ml) versus 635 ml (300–965 ml; p=0,21). Ein Patient in der rFVIIa-Gruppe wurde auf chirurgischen Wunsch hin nicht nach Protokoll behandelt, sodass die Per-Protokoll-(PP-)Analyse 2 transfundierte Patienten in der rFVIIa-Gruppe versus 8 Patienten in der Kontrollgruppe ergab (p=0,037). Der Gesamttransfusionsbedarf zeigte in der ITT-Analyse keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (105 vs. 74 Transfusionseinheiten [TE], p=0,052), während in der PP-Analyse ein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden konnte (105 vs. 13 TE, p=0,011).

Zwei Fallserien mit historischen Kontrollgruppen beschrieben eine signifikante Reduktion von Blutverlust und Transfusionsbedarf nach Gabe von rFVIIa im Vergleich zur Kontrollgruppe (Karkouti et al. 2005; Romagnoli et al. 2006). Die verabreichten Dosen betrugen im Mittel 62 μg/kg (Karkouti et al. 2005) und im Median 17 μg/kg. In Hinsicht auf die Sicherheit der Therapie zeigten die Gruppen in der Untersuchung von Karkouti keine Unterschiede bis auf eine erhöhte Rate an Nierendysfunktion in der rFVIIa-Gruppe (15 vs. 6 Patienten, p<0,05). Romagnoli und Mitarbeiter beobachteten eine höhere Gesamtanzahl an Komplikationen (5 vs. 3 Patienten, p=0,0006), darunter 2 Schlaganfälle in der rFVIIa-Gruppe.

Eine weitere retrospektive kontrollierte Kohortenstudie zeigte in der Intragruppenanalyse der mit rFVIIa-behandelten Patienten (mediane Dosis: 60 μg/kgKG) eine signifikante Reduktion von Drainageverlust (1.805 ml vs. 1.340 ml, p=0,032) und Transfusionsbedarf nach rFVIIa-Therapie (p jeweils <0,05; von Heymann et al. 2005). Dieses Ergebnis war jedoch im Vergleich zur Kontrollgruppe (Intergruppenanalyse) nicht unterschiedlich (Drainageverlust: rFVIIa-Gruppe 1.340 ml vs. 595 ml, p=0,140; Erythrozytenkonzentrate: rFVIIa-Gruppe 4 vs. 2,6 E, p=0,44; Frischplasma: rFVIIa-Gruppe 3,9 vs. 1,9 E, p=0,06). Thrombozytenkonzentrate wurden signifikant seltener in der Kontrollgruppe transfundiert (rFVIIa-Gruppe: 1,0 vs. 0,5 E, p=0,04).

Thromboembolische Komplikationen wurden in keiner Studiengruppe beobachtet. Die Autoren schlussfolgerten, dass rFVIIa als Ultima Ratio bei refraktären Blutungen nach herzchirurgischen Operationen keinen Vorteil gegenüber einer konventionellen hämostatischen Therapie aufwies.

**! Zusammenfassend kann für die Anwendung von rFVIIa in der Herzchirurgie gesagt werden, dass die überwiegende Anzahl von Fallberichten und Fallserien eine Reduktion von Blutverlust und Transfusionsbedarf berichtet, welche allerdings in der derzeit laufenden placebokontrollierten prospektiven randomisierten Multicenterstudie bestätigt werden muss.**

Zur weiteren Beurteilung der Effektivität und Sicherheit der Therapie mit rFVIIa bei Off-Label-Anwendungen wird auf eine aktuelle europäische Empfehlung verwiesen (Vincent et al. 2006).

### Antagonisierung medikamenteninduzierter Blutungen mit rFVIIa

Zu dieser Indikation existieren nur wenige Fallberichte oder kontrollierte Studien. In Einzelfällen ist der erfolgreiche Einsatz von rFVIIa in einer Dosis von 90–120 μg/kgKG bei Fondaparinux- oder Tirofiban-(GP-IIb-IIIa-Inhibitor-)induzierten Blutungen beschrieben worden (Huvers et al. 2005; Stepinska et al. 2002). Für Fondaparinux ist in einer kontrollierten Untersuchung an Freiwilligen gezeigt worden, dass die durch die s.c.-Gabe von 2,5 mg Fondaparinux verlängerten Gerinnungszeiten durch 90 μg/kgKG signifikant reduziert werden konnten (Bijsterveld et al. 2002).

Für die Therapie von Blutungen, die durch niedermolekulare Heparine oder direkte Thrombininhibitoren verursacht wurden, liegen bislang keine konsistenten Daten zur Wirksamkeit von rFVIIa vor, sodass zu dieser Indikation derzeit keine Empfehlung gegeben werden kann (Firozvi et al. 2006; Chan et al. 2003; Ng et al. 2003).

### Nebenwirkungen

Wie bei anderen prokoagulatorisch wirkenden Substanzen auch sind Thromboembolien gefürchtete Nebenwirkungen dieser Therapie (Peerlinck u. Vermylen 1999). Herstellerangaben zufolge sind im Zeitraum von Dezember 1995 bis Januar 2005 unabhängig von der Indikation 123 thromboembolische Komplikationen bezogen auf 680.245 in diesem Zeitraum ausgelieferte Standarddosen (90 μg/kgKG, 70 kgKG) gemeldet worden (1:5.360; Levy et al. 2006). In der Behandlung der Hemmkörperhämophilie sind thromboembolische Komplikationen selten beobachtet worden (<1:25.000 Standarddosierungen; Abshire u. Kenet 2004). In der Hochdosistherapie von 270 μg/kgKG bei Kindern (s.o.) wurde keine erhöhte Rate thromboembolischer Komplikationen im Vergleich zur Standarddosierung beschrieben (Kenet et al. 2003; Santagostino et al. 2006; Kavakli et al. 2006; Aledort 2004).

Bislang liegen nur wenige kontrollierte Daten zum thromboembolischen Risiko bei nicht zugelassenen Indikationen vor. O'Connell und Mitarbeiter (2006) beschrieben 185 Thromboembolien im Zusammenhang mit der Therapie mit rFVIIa, die vom 25. März 1999 bis 31. Dezember 2004 an die FDA gemeldet wurden.

In den beschriebenen, placebokontrollierten Multicenterstudien wurde keine signifkante Häufung von Thromboembolien in der Gruppe der mit rFVIIa-behandelten Patienten gefunden (Mayer et al. 2005; Boffard et al. 2006; Lodge et al. 2005a, 2005b). In der Herzchirurgie, die auf-

grund der hohen Inzidenz einer artherosklerotischen Grunderkrankung dieser Patienten als Risikoindikation gelten kann, wurde in einer risikoadjustierten Analyse von Patienten, die wegen refraktärer Blutung mit rFVIIa behandelt wurden, eine Odds-Ratio (OR, Risikowahrscheinlichkeitsverhältnis) für thromboembolische Komplikationen von 1,04 (95% CI: 0,60–1,81; p=0,9) beschrieben (Karkouti et al. 2006). Die Odds-Ratio für thromboembolische Komplikationen war signifikant niedriger (OR 0,41; 95% CI: 0,18–0,92; p=0,03), wenn die Therapie mit rFVIIa spät (nach Transfusion von 8 Erythrozytenkonzentraten) erfolgte.



Eine Metaanalyse von Fallberichten und -serien zum Einsatz von rFVIIa in der Allgemein- und Gefäßchirugie sowie Urologie zeigte, dass das mittlere geschätzte Risiko für eine Thromboembolie nach rFVIIa-Gabe nicht unterschiedlich war zu den mit Placebo behandelten Patienten aus den Multicenterstudien in diesem operativen Gebiet (Placebo 5,97%, 95% CI: 0,85–11; 1% vs. rFVIIa 6,42%, 95% CI: 1,08–11,75%; OR: 0,806; 95% CI: 0,42–1,53; von Heymann et al. 2008).

**Cave**

Besondere Vorsicht ist bei der kombinierten Therapie von aktivierten Prothrombinkomplexpräparaten (FEIBA)und rFVIIa angeraten, da hier ein hohes Risiko für thromboembolische Komplikationen, v. a. in der operativen Medizin, zu bestehen scheint (Bui et al. 2001).

Bei der Behandlung therapierefraktärer Blutungsereignisse bei Hemmkörperhämophilen ist in Einzelfällen von einer komplikationsfreien kombinierten Therapie (Key et al. 2002) bzw. einer sequenziellen kombinierten Therapie (Schneidermann et al. 2007) berichtet worden.

Eine bekannte Überempfindlichkeit gegen Mäuse-, Hamster- oder Rindereiweiß ist eine Gegenanzeige und stellt eine Kontraindikation dar.

## 50.5.2 Factor Eight Inhibitor Bypassing Activity (FEIBA)

### Wirkmechanismus

Bei der Hemmkörperhämophilie ist die Komplexbildung von FVIIIa und FIXa (Tenasekomplex) gestört, was nachfolgend in eine verminderte Aktivierung von FX einmündet, die für die Formation des Prothrombinasekomplexes (FXa:FVa) auf der Oberfläche von aktivierten Thrombozyten essenziell ist. Aus dieser mangelnden Faktorenaktivierung heraus kann am Ort der Gefäßverletzung keine ausreichende Menge an Thrombin gebildet werden, sodass es zu keiner oder einer nur unzureichenden Fibringerinnselbildung kommt.

FEIBA führt die aktivierten Faktoren des Prothrombinkomplexes (IIa, VIIa, IXa, Xa) zu, die auch bei unzureichender oder fehlender Aktivität von FVIII eine Thrombinbildung induzieren, die vergleichbar ist zu der von rFVIIa (Turecek et al. 2004). FEIBA kann minimale Spuren von FVIII und Phospholipiden enthalten, die potenziell antigen wirken können. Deren pathophysiologische Bedeutung ist nicht geklärt. Das Potenzial der Thrombinbildung auch bei Mangel an FVIII oder bei Vorliegen von Hemmkörpern ist die pharmakologische Basis für die Therapie der spontan oder bei einer angeborenen Hämophilie auftretenden Hemmkörper.

### Indikationen, Dosierung und Applikation

Während zur Behandlung der Hämophilie je nach Konzentration der Faktoren FVIII-Konzentrat oder bei sehr milden Formen DDAVP gegeben werden, wird FEIBA seit mehr als 20 Jahren zur Therapie akuter Blutungen bei Hemmkörperhämophiliepatienten eingesetzt (Großmann et al. 2000).

**! Die Initialdosis zur Behandlung akuter Blutungen von Kindernund Erwachsenen beträgt bei Low-Respondern (<5 BE) oder High-Respondern (>5 BE) je 100 E/kgKG, gefolgt von einer Erhaltungsdosis von 2-mal 100 E/kgKG pro Tag bis zum Sistieren der Blutung (Vorstand und wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer 2003).**

FEIBA wird in der Regel nicht zur Blutungsprophylaxe eingesetzt, auch wenn kürzlich von einer effektiven und sicheren prophylaktischen Therapie bei Kindern mit Hemmkörperhämophilie berichtet wurde.

Zur Hemmkörpereliminationstherapie durch Erzeugung einer Immuntoleranz wird in der Regel FVIII- oder FIX-Konzentrat eingesetzt.

Die klinische Wirksamkeit der Therapie mit FEIBA ist gut untersucht und zeigt eine hohe und vergleichbare Effektivitätsrate zu rFVIIa, das Auftreten von Blutungen bei Hemmkörperhämophilen zu behandeln. Es soll jedoch nicht unerwähnt bleiben, dass in einer prospektiven Studie bei Hemmkörperhämophilen, die auf die initiale Therapie mit FEIBA refraktär waren, eine Blutstillung bei 75% der Patienten mit rFVIIa erzielt werden konnte.

Eine Indikation für die Anwendung von FEIBA in der operativen Medizin ohne Vorliegen einer Hemmkörperhämophilie ist nicht bekannt.

### Nebenwirkungen

Wie bereits oben erwähnt, stellen thromboembolische Ereignisse unerwünschte und gefürchtete Komplikationen einer Therapie mit aktivierten Gerinnungsfaktoren dar.

**! Auch für die Therapie mit FEIBA sind thromboembolische Komplikationen, z. B. Myokardinfarkte, berichtet worden.**

Vergleicht man jedoch die Inzidenz thromboembolischer Komplikationen von FEIBA mit denen von rFVIIa, wie von Aledort (2004) aus einem Pharmakovigilanzprogramm berichtet, scheint rFVIIa signifikant häufiger mit thromboembolischen Komplikationen assoziiert zu sein als FEIBA. Nach der Anwendung von rFVIIa wurden überwiegend zerebrale Infarkte und nach FEIBA vermehrt Myokardinfarkte beobachtet. Diese Ergebnisse müssen von Studien mit ausreichend großer Patientenzahl und prospektiv randomisiertem Studiendesign bestätigt werden, bevor kausale Schlussfolgerungen für den klinischen Alltag gezogen werden können.

Insgesamt kam eine Konsensuskonferenz im Jahr 2006 zu der Schlussfolgerung, dass zur Beurteilung der vergleichenden Sicherheit – und dies gilt auch für die Effektivität – der zur Verfügung stehenden Substanzen weitere prospektive randomisierte Studien erforderlich sind.

### Kontraindikationen

Als Kontraindikationen gelten pathophysiologische Zustände, die mit einer bereits bestehenden Aktivierung des Gerinnungssystems einhergehen (z. B. Verbrauchskoagulopathie, akuter Myokardinfarkt). Bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit oder peripherer arterieller Verschlusskrankheit sollte FEIBA nur nach kritischer Abwägung und im Notfall eingesetzt werden.

Aufgrund eines berichteten Todesfalls nach kombinierter Anwendung von FEIBA und rFVIIa in der operativen Medizin (Bui et al. 2001) sollten diese Substanzen nicht zusammen eingesetzt werden.

## Literatur

Abshire T, Kenet G (2004) Recombinant factor VIIa: review of efficacy, dosing regimens and safety in patients with congenital and acquired factor VIII or IX inhibitors. J Thromb Haemost 2: 899–909

Ahonen J, Jokela R (2005) Recombinant factor VIIa for life-threatening post-partum haemorrhage. Br J Anaesth 94: 592–595

Aledort LM (2004) Comparative thrombotic event incidence after infusion of recombinant factor VIIa versus factor VIII inhibitor bypass activity. Thromb Haemost 2: 1700–8

Almeida AM, Khair K, Hann I, Liesner R (2003) The use of recombinant factor VIIa in children with inherited platelet function disorders. Br J Haematol 121, 477–481

Astermark J, Donfield SM, DiMichele DM, Gringeri A, Gilbert SA, Waters J, Berntorp E; FENOC Study Group (2007) A randomized comparison of bypassing agents in hemophilia complicated by an inhibitor: the FEIBA NovoSeven Comparative (FENOC) Study. Blood 109: 546–51

Berntorp E, Shapiro A, Astermark J et al. (2006) Inhibitor treatment in haemophilias A and B: summary statement for the 2006 international consensus conference. Haemophilia 12 (Suppl 6): 1–7

Bijsterveld NR, Moons AH, Boekholdt SM, van Aken BE, Fennema H, Peters RJ, Buller HR, Levi M (2002) Ability of recombinant factor VIIa to reverse the anticoagulant effect of the pentasaccharide fondaparinux in healthy volunteers. Circulation 106: 2550–4

Boffard KD, Riou B, Warren B et al. and the NovoSeven Trauma Study Group (2005) Recombinant factor VIIa as adjunctive therapy for bleeding control in severely injured trauma patients: two parallel randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trials. J Trauma 59: 8–15

Bui JD, Despotis GD, Trulock EP, Patterson GA, Goodnough LT (2002) Fatal thrombosis after administration of activated prothrombin complex concentrates in a patient supported by extracorporeal membrane oxygenation who had received activated recombinant factor VII. J Thorac Cardiovasc Surg 124: 852–4

Chan S, Kong M, Minning DM, Hedner U, Marder VJ (2003) Assessment of recombinant factor VIIa as an antidote for bleeding induced in the rabbit by low molecular weight heparin. J Thromb Haemost 1: 760–5

Diprose P, Herbertson MJ, O'Shaughnessy D, Gill R (2005) Activated recombinant factor VII after cardiopulmonary bypass reduces allogeneic transfusion in complex non-coronary cardiac surgery: randomized double-blind placebo-controlled pilot study. Br J Anaesth 95: 596–602

Ekert H, Brizard C, Eyers R, Cochrane A, Henning R (2006) Elective administration of low dose recombinant activated factor VII (rFVIIa) in cardiopulmonary bypasssurgery for congenital heart disease does not shorten time to chest closure or reduce blood loss or need for transfusions: a randomized, double-blind, parallel group, placebo controlled study of rFVIIa and standard haemostatic replacement therapy versus standard haemostatic therapy. Blood Coagul Fibrinol 17: 389–95

Firozvi K, Deveras RA, Kessler CM (2006) Reversal of low-molecular-weight heparin-induced bleeding in patients with pre-existing hypercoagulable states with human recombinant activated factor VII concentrate. Am J Hematol 81: 582–9

Franchini M, Salvagno GL, Lippi G (2006) Inhibitors in mild/moderate haemophilia A: an update.Thromb Haemost 96: 113–8

Girolami A, Randi ML, Ruzzon E, Zanon E, Girolami B (2005) Myocardial infarction, other arterial thrombosis and invasive coronary procedures, in hemaophilia B: a critical evaluation of reported cases. J Thromb Thrombolysis 20: 43–6

Hay CR, Negrier C, Ludlam CA (1997) The treatment of bleeding in acquired haemophilia with recombinant factor VIIa: a multicentre study. Thromb Haemost 78: 1463–1467

Hedner U, Erhardtsen E (2002) Potential role of for rhFVIIa in transfusion medicine. Transfusion 42: 114–124

Hoffman M, Monroe DM (2001) A cell based model of hemostasis. Thromb Haemost 88: 958–65

Hollnberger H, Gruber E, Seelbach-Goebel B (2005) Major Post-Partum Hemorrhage and Treatment with Recombinant Factor VIIa. Anesth Analg 101: 1186–1187

Huvers F, Slappendel R, Benraad B, van Hellemondt G, van Kraaij M (2005) Treatment of postoperative bleeding after fondaparinux with rFVIIa and tranexamic acid. Neth J Med 63: 184–6

Ingerslev J, Knudsen L, Hvid I, Tange MR, Fredberg U, Sneppen O (1997) Use of recombinant factor VIIa in surgery in factor-VII-deficient patients. Haemophilia 3: 215–18

Jurlander B, Thim L, Klausen N et al. (2001) Recombinant activated factor VII (rhFVIIa): Characterisation, manufacturing and clinical development. Sem Thromb Haemost 27: 373–383

Kavakli K, Makris M, Zulfikar B, Erhardtsen E, Abrams Z, Kenet G (2006) Home treatment of haemarthroses using a single dose regimen of recombinant activated factor VII in patients with haemophilia and inhibitors. A multi-centre, randomised, double-blind, cross-over trial. Thromb Haemost 95: 600–5

Karkouti K, Yau TM, Riazi S et al. (2006) Determinants of complications with recombinant factor VIIa for refractory blood loss in cardiac surgery. Can J Anaesth 53: 802–9

Karkouti K, Beattie WS, Wijeysundera DN et al. (2005) Recombinant factor VIIa for intractable blood loss after cardiac surgery: a propensity score-matched case-control analysis. Transfusion 45: 26–34

Kenet G, Lubetzk A, Luboshitz J, Martinowitz U (2003) A new approach to treatment of bleeding episodes in young hemophilia patients: a single bolus megadose of recombinant activated factor VII (NovoSeven). J Thromb Haemost 1: 450–455

Key NS, Christie B, Henderson N, Nelsestuen GL (2002) Possible synergy between recombinant factor VIIa and prothrombin complex concentrate in hemophilia therapy. Thromb Haemost 88: 60–65

Leissinger CA, Becton DL, Ewing NP, Valentino LA (2007) Prophylactic treatment with activated prothrombin complex concentrate (FEIBA) reduces the frequency of bleeding episodes in paediatric patients with haemophilia A and inhibitors. Haemophilia 13: 249–55

Levy JH, Fingerhut A, Brott T, Langbakke IH, Erhardtsen E, Porte RJ (2006) Recombinant factor VIIa in patients with coagulopathy secondary to anticoagulant therapy, cirrhoise, or severe traumatic injury: review of safety profile. Transfusion 46: 919–33

Lodge JP, Jonas S, Jones RMet al. for the rFVIIa OLT Study Group (2005) Efficacy and safety of repeated perioperative doses of recombinant factor VIIa in liver transplantation. Liver Transpl 11: 973–9

Lodge JP, Jonas S, Oussoultzoglu E et al. (2005) Recombinant coagulation factor VIIa in major liver resection: a randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial. Anesthesiology 102: 269–75

Lusher JM, Roberts HR, Davignon G, Joist JH, Smith H, Shapiro A, Laurian Y, Kasper CK, Mannucci PM (1998) A randomized, double-blind comparison of two dosage levels of recombinant factor VIIa in the treatment of joint, muscle and mucocutaneous haemorrhages in persons with haemophilia A and B, with and without inhibitors. Haemophilia 4: 790–798

Mayer SA, Brun NC, Begtrup K et al.; Recombinant Activated Factor VII Intracerebral Hemorrhage Trial investigators (2005) Recombinant activated factor VII for acute intracerebral hemorrhage. N Engl J Med 352: 777–85

Moulton MJ, Creswell LL, Mackey ME, Cox JL, Rosenbloom M (1996) Reexploration for Bleeding is a risk factor for adverse outcomes after cardiac operations. J Thorac Cardiovasc Surg 111: 1037–46

Ng HJ, Koh LP, Lee LH (2003) Successful control of postsurgical bleeding by recombinant factor VIIa in a renal failure patient given low molecular weight heparin and aspirin. Ann Hematol 82: 257–8

Nurden AT, George JN (2001) Inherited abnormalities of the platelet membrane: Glanzmann Thrombasthenia, Bernard-Soulier-Syndrome, and other disorders. In: Colman R (ed) Haemostsasis and Thrombosis. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p 987 pp

O'Connell KA, Wood JJ, Wise RP, Lozier JN, Braun MM (2006) Thromboembolic adverse events after use of recombinant human coagulation factor VIIa. JAMA 295: 293–8

Peerlinck K, Vermylen J (1999) Acute myocardial infarction following administration of recombinant activated factor VII (Novo Seven) in a patient with haemophilia A and inhibitor. Thromb Haemost 82: 1775–6

Poon MC (2007) The evidence for the use of recombinant human activated factor vii in the treatment of bleeding patients with quantitative and qualitative platelet disorders. Transfus Med Rev 21: 223–36

Romagnoli S, Bevilacqua S, Gelsomino S, Pradella S, Ghili L, Rostagno C, Gensini GF, Sorbara C (2006) Small-dose recombinant activated factor VII (NovoSeven) in cardiac surgery. Anesth Analg 102: 1320–6

Santagostino E, Mancuso ME, Rocino A, Mancuso G, Scaraggi F, Mannucci PM (2006) A prospective randomized trial of high and standard dosages of recombinant factor VIIa for treatment of hemarthroses in hemophiliacs with inhibitors. J Thromb Haemost 4: 367–71

Scharrer I, Großmann R (2000) Erworbene Hemmkörper-Hämophilie. Anästhesist 49: 34–42

Schneiderman J, Rubin E, Nugent DJ, Young G (2007) Sequential therapy with activated prothrombin complex concentrates and recombinant FVIIa in patients with severe haemophilia and inhibitors: update of our previous experience. Haemophilia 13: 244–8

Shapiro AD, Gilchrist GS, Hoots WK, Cooper HA, Gastineau DA (1998) Prospective, randomised trial of two doses of rFVIIa (NovoSeven®) in haemophilia patients with inhibitors undergoing surgery. Thromb Haemost 80: 773–778

Spahn DR, Cerny V, Coats TJ et al.; Task Force for Advanced Bleeding Care in Trauma (2007) Management of bleeding following major trauma: a European guideline. Crit Care 11: R17

Stepinska J, Banaszewski M, Konopka A, Szajewski T (2002) Activated recombinant factor VII (rFVIIa) in bleeding management after therapy with IIb/IIIa-inhibitor tirofiban. Thromb Haemost 87: 355–6

Turecek PL, Varadi K, Keil B, Negrier C, Berntorp E, Astermark J, Bordet JC, Morfini M, Linari S, Schwarz HP (2003) Factor VIII inhibitor-bypassing agents act by inducing thrombin generation and can be monitored by a thrombin generation assay. Pathophysiol Haemost Thromb 33: 16–22

Villar A, Aronis S, Morfini M, Santagostino E, Auerswald G, Thomsen HF, Erhardtsen E, Giangrande PLF (2004) Pharmacokinetics of activated recombinant coagulation factor VII (NovoSeven) in children vs. adults with haemophilia A. Haemophilia 10: 352–359

Vincent JL, Rossaint R, Riou B, Ozier Y, Zideman D, Spahn DR (2006) Recommendations on the use of recombinant activated factor VII as an adjunctive treatment for massive bleeding – a European perspective. Crit Care 10(4): R120

Virchis A, Hughes C, Berney S (2004) Severe gastrointestinal hemorrhage responding to recombinant factor VIIa in a Jehovas witness with refractory immune thrombocytopenia. Haematology J 5: 281–282

von Heymann C, Jonas S, Spies C, Wernecke KD, Ziemer S, Janssen D, Koscielny J (2008) Recombinant activated factor VIIa for the treatment of bleeding in major abdominal surgery including vascular and urological surgery: a review and meta-analysis of published data. Crit Care 12: R14

von Heymann C, Redlich U, Jain U et al. (2005) Recombinant activated factor VII for refractory bleeding after cardiac surgery--a retrospective analysis of safety and efficacy. Crit Care Med 33: 2241–6

Vorstand und wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekamme (Hrsg.) (2003) Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten, 3. überarbeitete Aufl. Köln: Deutscher Ärzte-Verlag, S 134

Young G, Shafer FE, Rojas P, Seremetis S (2008). Single 270 microg kg(-1)-dose rFVIIa vs. standard 90 microg kg(-1)-dose rFVIIa and APCC for home treatment of joint bleeds in haemophilia patients with inhibitors: a randomized comparison. Haemophilia;14:287-94.

## 50.6 Thrombozytenkonzentrate

*A. Greinacher*



### Einleitung

Thrombozytentransfusionen werden zur Prophylaxe und Therapie von thrombozytär bedingten Blutungen eingesetzt. Die Indikationsstellung ist abhängig von Thrombozytenzahl und -funktion, der Blutungsneigung, dem Blutungsrisiko sowie der Grunderkrankung. Für die Indikation zur Thrombozytentransfusion hat die klinische Blutungsneigung die größte Bedeutung. Die wichtigsten unerwünschten Wirkungen der Thrombozytentransfusion sind die Alloimmunisierung, schwere Transfusionsreaktion bei bakterieller Kontamination, Übertragung von pathogenen Viren und die transfusionsassoziierte Lungeninsuffizienz (TRALI). Die klinischen Auswirkungen der Immunmodulation durch Thrombozytentransfusionen sind unklar.

### 50.6.1 Präparate

Thrombozytenkonzentrate (TK) werden entweder aus Vollblutspenden oder durch Thrombozytapherese von gesunden Blutspendern gewonnen. Das Pool-TK besteht aus den Thrombozyten von 4–6 Vollblutspenden und enthält 240 bis $360 \times 10^9$ Thrombozyten in 200–350 ml Plasma oder einer Mischung aus ca 40% Plasma und 60% Plasmaersatzlösung. Das Apheresethrombozytenkonzentrat enthält in der Regel 200 bis $400 \times 10^9$ Thrombozyten in etwa 200–300 ml Plasma eines Einzelspenders. Im TK ist eine geringe Menge von Erythrozyten ($<3 \times 10^9$) vorhanden. Der Gehalt an Restleukozyten liegt unterhalb von $1 \times 10^6$ pro TK.

Nach Transfusion verteilen sich die übertragenen Thrombozyten im Blut und in der Milz. Die Wiederfindungsrate (Recovery) im peripheren Blut liegt deshalb bei etwa 60–70%. Die Recovery ist bei fehlender Milz entsprechend höher bzw. bei Hypersplenismus niedriger. Eine verringerte Recovery findet man ebenfalls bei erhöhtem Thrombozytenverbrauch (z. B. bei Sepsis, disseminierter intravasaler Gerinnung, Antikörperbildung gegen thrombozytäre Antigene).

Frische, nicht aktivierte Thrombozyten eines Blutspenders lassen sich nach Transfusion etwa 7–10 Tage im peripheren Blut von gesunden Personen nachweisen. Diese mittlere Thrombozytenlebenszeit nimmt bei Lagerung der Thrombozyten über 5 Tage um 20–30% ab (Klüter et al. 1996). Sie ist bei allen Patienten mit Thrombozytopenien und/oder gesteigertem Thrombozytenverbrauch, v. a. aber bei Vorliegen von thrombozytenreaktiven Antikörpern deutlich verkürzt.

**! TK können bis zu 5 Tage gelagert werden. Danach steigt das Risiko bakteriellen Wachstums stark an. Die Lagerung muss unter kontrollierten Bedingungen und unter ständiger Bewegung erfolgen, damit über die gasdurchlässige Membran des Thrombozytenbeutels der Gasaustausch erfolgen kann. Eine Lagerung bei Temperaturen unter +18°C muss vermieden werden, da dies die Thrombozyten irreversibel schädigt.**

#### Auswahl der Thrombozytenpräparate

Die Diskussion um Auswahl der TK (Pool-TK oder Apherese-TK) wird sowohl von der lokalen Verfügbarkeit als auch von wirtschaftlichen Überlegungen bestimmt. In klinischen Studien war der Therapieeffekt für beide Präparate, Pool-TK und Apherese-TK, bislang gleich (Anderson et al. 1996; Klüter et al. 1996; Strindberg u. Berlin 1996). Diese Einschätzung ist umstritten.

Neuere Untersuchungen zeigen, dass die Recovery- und Überlebenszeit der Thrombozyten von Apheresepräparaten ggf. besser sein könnte als von Thrombozyten aus gefiltertem Vollblut (Pool-TK; Arnold et al. 2006). In einer Sekundäranalyse einer großen Studie trat eine Refraktärität gegen Thrombozytentransfusionen häufiger bei Pool-TK-Gaben als bei Apherese-TK auf (Slichter et al. 2004). Generell gilt (Stand 2007), dass für die Auswahl des Präparats bei nicht immunisierten Patienten die lokale Verfügbarkeit ein wichtiger zusätzlicher Faktor ist, der die Auswahl des Präparates bestimmt (Greinacher et al. 2006).

#### AB0-Blutgruppen und Rh-D-Kompatibilität

Thrombozyten tragen AB0-Blutgruppenantigene, im Plasma sind die korrespondierenden Anti-A- bzw. Anti-B-Isoantikörper enthalten. Bei Thrombozytenkonzentraten wer-

den Major- und Minorinkompatibilität hinsichtlich der AB0-Blutgruppe unterschieden. Eine Majorinkompatibilität liegt vor, wenn die Spenderthrombozyten für den Empfänger AB0 inkompatibel sind. Eine Minorinkompatibilität liegt vor, wenn das Plasma des Thrombozytenkonzentrats für den Empfänger inkompatibel ist.

Die Wiederfindungsrate (Recovery) bei Majorinkompatiblität von Thrombozyten ist um ca. 30–40% reduziert (Duquesnoy et al. 1979; Klumpp et al.1996; Heal et al. 1987) und nimmt mit zunehmender Anzahl majorinkompatibler Transfusionen weiter ab (Lee u. Schiffer 1989; Heal et al. 1993). Bei minorinkompatibler Thrombozytentransfusion ist die Wiederfindungsrate um 18% reduziert (Heal et al. 1993).

Leukämiepatienten mit AB0-identischen Thrombozytentransfusionen zeigten in kleineren Studien ein längeres Überleben als die AB0-inkompatibel transfundierten Patienten (Heal et al. 1993; Benjamin et al. 1999; Benjamin u. Antin 1999). Bei herzchirurgischen Patienten zeigte eine retrospektive Untersuchung an 153 Patienten einen Trend für ein erhöhtes Risiko für längeren Krankenhausaufenthalt, Mortalität und Infektionen durch AB0-inkompatible Thrombozytentransfusion (Blumberg et al. 2001). Dies wurde in einer zweiten retrospektiven Untersuchung an 1.721 Patienten nicht bestätigt (Lin et al. 2002).

**! Thrombozytenkonzentrate sollten, wenn möglich, blutgruppengleich gegeben werden. Sie enthalten geringe Menge Erythrozyten. Daher sollte bei der Auswahl auch der Rhesusfaktor D berücksichtigt werden. Ist die Gabe von Rhesus-D-positiven TK bei Rhesus-D-negativen Mädchen und Frauen im gebärfähigen Alter nicht vermeidbar, ist eine Prophylaxe mit 150–300 µg Anti-D-Immunglobulin als i.v.- oder s.c.-Applikation indiziert (wegen Blutungsgefahr keine i.m.-Applikation!).**

## 50.6.2 Indikationen

Die Indikationsstellung zur Thrombozytentransfusion ist abhängig von Thrombozytenzahl und -funktion. Die Kriterien für die Indikationsstellung zur Thrombozytentransfusion befinden sich im Umbruch. Anstatt die Transfusion, wie bislang üblich, von einer bestimmten Thrombozytenzahl abhängig zu machen, weisen klinische Studien zunehmend darauf hin, dass die Transfusionsindikation besser von der Blutungssymptomatik (siehe Übersicht) abhängig gemacht werden sollte. Während bei thrombozytenbedingten Blutungen WHO-Grad 3 oder 4 die Thrombozytentransfusion als indiziert gilt, kann in Einzelfällen das individuelle Blutungsrisiko des Patienten durchaus prophylaktische Transfusionen rechtfertigen.

Prophylaktische Thrombozytentransfusionen sollen das Risiko klinisch bedrohlicher Blutungen verringern. Für Patienten mit hämatologisch-onkologischen Erkrankungen existieren hierzu Daten aus kontrollierten klinischen Studien (Slichter 2004). Für alle anderen Patientengruppen ist das optimale Vorgehen ungeklärt. Diesem Kapitel liegt eine evidenzbasierte Empfehlung zur Thrombozytentransfusion von 3 Fachgesellschaften zugrunde (Greinacher et al. 2006). Die Empfehlungen finden sich in tabellarischer Form unter www.karger.com/tmh/2006/033/006/toc.

**Blutungssymptomatik nach WHO**

- Grad 1: kleinere Hämatome, Petechien, Zahnfleischbluten
- Grad 2: kleinere Blutungen, die keine Transfusion von Erythrozytenkonzentraten erfordern
- Grad 3: transfusionsbedürftige Blutungen
- Grad 4: organ- oder lebensbedrohliche Blutungen

#### Hämatoonkologische Patienten

Auch wenn hämatoonkologische Patienten aufgrund der chemotherapieinduzierten Thrombozytopenie in der Regel die meisten Thrombozytentransfusionen erhalten, sollte bei diesen Patienten die Indikation zur Thrombozytentransfusion anhand der Grunderkrankung differenziert gestellt werden.

### Patienten mit chronischer Thrombozytopenie

Hierzu zählen Patienten z. B. mit aplastischem Syndrom, myelodysplastischem Syndrom oder hereditärer Thrombozytopenie. Diese werden sehr restriktiv mit Thrombozyten transfundiert. Bei ambulanten Patienten mit aplastischer Anämie ergaben sich keine bedrohlichen Blutungskomplikationen bei folgendem prospektiv festgelegtem Transfusionstrigger:

- Thrombozytenzahl <5.000/µl und wöchentliche Kontrolle
- Thrombozytenzahlen <10.000/µl nach kürzlich zurückliegender Blutung oder Fieber über 38° C
- Transfusion bei >10.000/µl bei Blutungsereignissen Grad 3 oder 4 nach WHO oder vor kleineren chirurgischen Eingriffen (Sagmeister et al. 1999).

Der Nutzen der Gabe von Thrombozyten bei Thrombozytenwerten >5.000/µl zur Prophylaxe von Blutungen ist bei diesen Patienten nicht belegt. Sie sollten nur bei klinisch manifester Blutung Grad 3 oder Grad 4 bzw. vor chirurgischen Eingriffen oder bei Thrombozytenzahlen <5.000/µl mit Thrombozyten transfundiert werden.

### Patienten mit akuter Thrombozytenbildungsstörung durch Chemotherapie

Wenn keine blutungsrelevanten Begleitumstände vorliegen, ist es ausreichend, Erwachsene mit krankheits- oder therapiebedingter passagerer Thrombozytopenie erst ab einem Wert von 10.000 Thrombozyten/µl prophylaktisch zu transfundieren. Dies wurde vorwiegend bei Patienten mit akuter Leukämie untersucht (Stanworth et al. 2004; Wandt et al. 2001). Bei Kindern sollten Begleitrisiken (z. B. Bewegungsdrang, Sturzgefahr) berücksichtigt werden.

Bei Patienten mit Knochenmark- oder Stammzelltransplantation liegen nur wenige Studien zur prophylaktischen Thrombozytentransfusion vor. Blutungen sind bei diesen Patienten häufig auf zusätzliche Komplikationen zurückzuführen (z. B. Mukositis). Bei stabilen Patienten wird ein Transfusionstrigger von 10.000 Thrombozyten/µl akzeptiert (Heal u. Blumberg 2004; Navarro et al. 1998; Wandt et al. 1998; Heckmann et al. 1997; Rebulla et al. 1997; Lawrence et al. 2001; Tinmouth et al. 2004). Derzeit wird prospektiv untersucht, diese Patienten nur nach klinischer Blutungsneigung zu transfundieren.

Bei Patienten mit soliden Malignomen und Thrombozytopenie nach Strahlen- oder Chemotherapie fehlen wiederum prospektive Studien, hier wird derzeit auch ein Trigger von 10.000 Thrombozyten/µl für die prophylaktische Transfusion empfohlen. Bei Patienten mit nekrotisierenden soliden Primärtumoren bzw. Metastasen können gravierende Blutungen auch bei Thrombozytenzahlen über 50.000/µl auftreten. Dann ist die Thrombozytentransfusion auch bei höheren Plättchenzahlen notwendig.

**Risikofaktoren für das Auftreten von Blutungskomplikationenbei Thrombozytopenie**

- Infektionen
- Komplikationen (Graft-versus-Host-Reaktion)
- klinische Zeichen der Hämorrhagie (z. B. petechiale Blutungen)
- Fieber über 38°C
- Leukozytose
- plasmatische (prohämorrhagische) Gerinnungsstörung
- steiler Abfall der Thrombozytenzahl
- vorbestehende Nekrosebereiche

Liegen bei Patienten mit chemotherapieinduzierter akuter Thrombozytopenie zusätzliche Blutungsrisiken vor (siehe Übersicht), wird in der Regel die prophylaktische Gabe von Plättchenkonzentraten bei Thrombozytenzahlen ≤20.000/µl empfohlen.

**! Alle prospektiven Studien zeigen, dass hämatoonkologische Patienten durch eine restriktive Transfusionsindikation nicht gefährdet werden. Die klinische Blutungsneigung ist ein wichtigerer Indikator für die Notwendigkeit einer Trombozytentransfusion als die Thrombozytenzahl.**

### Patienten mit erhöhtem Thrombozytenumsatz

Patienten mit Thrombozytopenie aufgrund einer immunologischen oder nicht immunologischen thrombozytären Umsatzsteigerung sollten nur im Fall von bedrohlichen Blutungen transfundiert werden. In diesen Fällen wird bis zur Blutstillung oft eine hohe Dosierung an Thrombozyten benötigt. Bei Autoimmunthrombozytopenie müssen gleichzeitig hoch dosiert Glukokortikoide (2 mg Prednisolon/kgKG) und Immunglobuline (1 g/kgKG pro Tag an 2 aufeinanderfolgenden Tagen) gegeben werden (Godeau et al. 2002).

Besonders problematisch ist die Thrombozytentransfusion bei Patienten mit hämolytisch-urämischem Syndrom, TTP oder medikamentös ausgelöster mikroangiopathischer Hämolyse, weil hier die antransfundierten Thrombozyten die Pathogenese weiter unterhalten können. Diesen Patienten sollten nur bei manifester Blutungsneigung nach Ausschöpfung aller anderen therapeutischen Optionen Thrombozyten transfundiert werden.

Bei Patienten mit Umsatzsteigerungen im Rahmen einer Verbrauchskoagulopathie oder Sepsis ist die Situation ungeklärt. Patienten mit Sepsis und Verbrauchskoagulopathie sollten nach Expertenmeinung nur bei manifester Blutungsneigung mit Thrombozyten transfundiert werden. Es liegen hierzu jedoch keine prospektiven Studien vor.

### Invasive Eingriffe

Der kritische Thrombozytenwert bei invasiven diagnostischen Verfahren und Operationen ist abhängig vom individuellen Blutungsrisiko des Patienten, der Komedikation (siehe Übersicht), dem Ausmaß der Traumatisierung und dem Gefährdungspotenzial, das mit einer möglichen Blutung verbunden ist. Nach allgemeiner klinischer Erfahrung besteht kein erhöhtes Blutungsrisiko bei einer Thrombozytenzahl ≥50.000/µl und normaler Thrombozytenfunktion (Samama et al. 2005). Besteht eine kombinierte Gerinnungsstörung ist neben der Thrombozytengabe auch die Behandlung der plasmatischen Gerinnungsstörung erforderlich.

**Medikamente, die die Thrombozytenfunktion hemmen können**

- Thrombozytenaggregationshemmer (z. B. Acetylsalicylsäure, Clopidogrel, Ticlopidin, Fibrinogenrezeptorantagonisten, bestimmte nichtsteroidale Antirheumatika)
- Antibiotika (z. B. Penicillin G, Ampicillin, Cephalosporine, Amphotericin B)
- künstliche Kolloide (Dextrane, hochmolekulare Hydroxyethylstärke)
- Antikoagulanzien (Heparine, direkte Thrombininhibitoren)
- Thrombolytika (v. a. Streptokinase)
- trizyklische Antidepressiva, Phenothiazine, Valproinsäure, Serotoninwiederaufnahmehemmer



Bei erworbenen Plättchenfunktionsstörungen (z. B. infolge einer Urämie, nach kardiopulmonalem Bypass, unter Behandlung mit Thrombozytenaggregationshemmern) sollte die Transfusionsindikation klinisch anhand der Blutungsneigung gestellt werden. Eine Begleittherapie mit Antifibrinolytika oder Desmopressin kann im Einzelfall indiziert sein.

Patienten, die mit Thrombozytenfunktionshemmern behandelt werden, haben ein erhöhtes Blutungsrisiko (Samama et al. 2002). Eine präoperative Thrombozytengabe wird bei diesen Patienten für Eingriffe mit einem besonders hohen Blutungsrisiko empfohlen (z. B. neurochirurgische Eingriffe und Operationen am hinteren Augenabschnitt).

#### Thrombozytentransfusion zur Behandlung einer akuten Blutung

Im Fall von akuten Blutungen stellen die Thrombozytenzahl und -funktion, das Ausmaß des Blutverlusts sowie die Bedrohlichkeit der Blutung die wichtigsten Transfusionstrigger dar. Besteht aufgrund eines massiven Blutverlusts oder der Lokalisation der Blutung eine akute Gefährdung des Patienten, wird die Substitution von Thrombozyten bei Unterschreiten eines Werts von 100.000/µl empfohlen (Stainsby et al. 2000). Bei transfusionspflichtigen Blutungen mit einem Transfusionsbedarf von ≥1 EK pro Tag (WHO Grad 3), wird unabhängig von der Genese der Blutung ein Thrombozytenzielwert von 100.000/µl angestrebt (Miller et al. 1981). Bei einer akuten Blutung ist das Sistieren der Blutung die wichtigste Therapiekontrolle.

#### Fetale und neonatale Alloimunthrombozytopenie

Die fetale und neonatale Alloimmunthrombozytopenie (FNAIT) wird durch Immunisierung der Mutter gegen ein fetales Thrombozytenantigen und diaplazentare Übertragung des Antikörpers in die fetale Zirkulation ausgelöst (Kroll et al. 1998). Am häufigsten sind Antikörper gegen die humanen Plättchenantigene (HPA) 1a und 5b beteiligt. Antikörper gegen andere HPA sind selten involviert (Kroll et al. 2005). Unbehandelte Neugeborene haben ein hohes Risiko, eine intrakranielle Blutung zu erleiden (bis zu 25%; Mueller-Eckhardt et al. 1989; Williamson et al. 1998). Bei einem Teil der Kinder treten die intrakraniellen Blutungen bereits pränatal auf (Zalneraitis et al. 1979; Kroll et al. 1994). Das Blutungsrisiko ist wahrscheinlich schon bei Thrombozytenwerten unter 50.000/µl gegeben.

In einer Serie von 27 Neugeborenen mit FNAIT führte in 24 Fällen die Gabe von unausgewählten Thrombozytenkonzentraten zu einem ausreichenden Anstieg der Thrombozytenwerte (Kiefel et al. 2006). In der Vergangenheit wurde die Transfusion mütterlicher Thrombozyten oft der Gabe unausgewählter Präparate vorgezogen (Mueller-Eckhardt et al. 1982). Mütterliche Thrombozyten sind aus organisatorischen Gründen jedoch häufig nur mit erheblicher zeitlicher Verzögerung zu erhalten. Außerdem muss das mütterliche Plasma entfernt und durch Spenderplasma ersetzt werden. Zunehmend halten Blutspendedienste HPA-1a-negative Thrombozytenkonzentrate von genotypisierten Spendern (Kroll et al. 2001) vor, die kurzfristig verfügbar gemacht werden können. Bei bekannter NAIT sollten vor geplanter Entbindung HPA-kompatible Thrombozytenkonzentrate bereitgestellt werden.

### 50.6.3 Management des refraktären Patienten

#### Definition

Die Refraktärität gegen Thrombozytentransfusionen ist gekennzeichnet durch einen fehlenden Anstieg der Thrombozytenwerte trotz wiederholter Transfusionen AB0-angeglichener, frischer Thrombozytenkonzentrate (<3 Tage). Nicht immunologische Ursachen, z. B. peripherer Verbrauch bei diffus blutenden oder septischen Patienten, sind häufiger als immunologische Ursachen wie Antikörper gegen HLA (humanes Leukozytenantigen) und HPA (humanes Plättchenantigen).

> **! Bei ausgeprägter Thrombozytopenie mit Blutungsneigung kann ein Refraktärzustand dadurch vorgetäuscht werden, dass die antransfundierten Thrombozyten des ersten Thrombozytenkonzentrates direkt verbraucht werden, um die multiplen Endothelläsionen »abzudichten«. In diesen Fällen kann in der Regel durch eine höhere Dosis an Thrombozyten (z. B. 2 frische AB0-gleiche TK) ein Anstieg der Thrombozytenwerte erreicht werden.**

Bei echter Refraktärität führt dies nicht zum Anstieg der Thrombozytenwerte.

**Tab. 50.1.** Grenzwerte für die Thrombozytentransfusion

| Eingriff | Transfusionstrigger [Thrombozyten/µl] | Bemerkungen | Literatur |
|---|---|---|---|
| **Invasive diagnostische Eingriffe** | | | |
| Lumbalpunktion (elektiv) | <50.000 | Blutungen (sehr selten) haben schwerwiegende Folgen | Edelson et al. 1974; Samama et al. 2005 |
| Lumbalpunktion (Notfall) | <20.000 | Wenn keine Blutungszeichen bestehen | Samama et al. 2005 |
| Lumbalpunktion (lebensbedrohlich) | Keiner | Z. B. Vedacht auf Meningokokken Sepsis | |
| Leberpunktion (transjugulär) | <10.000 | | Bravo et al. 2001 |
| Leberpunktion (perkutan) | <50.000 | Wenn möglich, bei blutungsgefährdeten Patienten vermeiden | Bravo et al. 2001 |
| Gelenkpunktionen | <20.000 | | Keine Studiendaten |
| Zahnärztliche Behandlung | <20.000 | Wenn möglich, nur einen Zahn operieren/entfernen, damit die Blutung überschaubar bleibt; lokale Behandlung (Mundspülung) mit Tranexamsäure | Keine Studiendaten |
| Zahnärztliche Behandlung (kieferorthopädischer Eingriff, Weisheitszahn-OP) | 20.000–30.000 | Wegen des Risikos eines Pharynxhämatoms mit Verlegung der Atemwege sollte immer nur eine Kieferseite operiert werden; lokale Behandlung (Mundspülung) mit Tranexamsäure | Keine Studiendaten |
| Gastrointestinale Endoskopie | Keiner | Kann auch bei schwerer Thrombozytopenie ohne Thrombozytentransfusion durchgeführt werden | Samama et al. 2005 |
| Gastrointestinale Endoskopie mit Biopsie | <20.000 | | Samama et al. 2005 |
| Bronchoskopie | Keiner | Kann auch bei schwerer Thrombozytopenie ohne Thrombozytentransfusion durchgeführt werden | Weis et al. 1993 |
| Bronchoskopie mit transbronchialer Biopsie | <50.000 | | |
| Angiographie, Koronarangiographie | <20.000 | Angiographie zur Lokalisation einer Blutungsquelle oder zur elektiven Gefäßdiagnostik | Samama et al. 2002 |
| Angiographie, Koronarangiographie bei akutem arteriellen Verschluss | Keiner | Die Thrombozytengabe kann den Gefäßverschluss verstärken; Thrombozytentransfusion nur bei verstärkten postinterventionellen Blutungen | Samama et al. 2002 |
| Beckenkammbiopsie | Keiner | Nur bei besonderem anatomischem Risiko | |
| **Operative Eingriffe** | | | |
| Epiduralanästhesie | <80.000 | | Vandermeulen et al. 1994; Hew-Wing et al. 1989; Beilin et al. 1997 |
| Spinalanästhesie | <50.000 | | Vandermeulen et al. 1994; Hew-Wing et al. 1989; Beilin et al. 1997 |
| Eingriffe mit geringem Blutungsrisiko | <20.000 | Bei peripheren Eingriffen, bei denen durch Kompression eine Blutstillung erreicht werden kann | Samama et al. 2005; Contreras 1998 |

▼

**Tab. 50.1.** (Fortsetzung)

| Eingriff | Transfusionstrigger [Thrombozyten/μl] | Bemerkungen | Literatur |
|---|---|---|---|
| Eingriffe mit mittlerem Blutungsrisiko | <50.000 | Z. B. Eingriffe in Körperhöhlen; bei Werten von 50.000–100.000/μl sollten die Thrombozytenzahlen intraoperativ engmaschig kontrolliert werden | Greinacher et al. 2006 |
| Eingriffe mit hohem Blutungsrisiko | <70.000–100.000* | Z. B. neurochirurgische Operationen | Greinacher et al. 2006 |
| Kardiochirurgische Operationen (präoperativ) | <20.000 | | Greinacher et al. 2006 |
| Kardiochirurgische Operationen (postoperativ) | <20.000 | Wenn bei zwei Messungen im Abstand von 30 min kein Anstieg der Thrombozytenzahlen erkennbar ist | Greinacher et al. 2006 |
| Perioperative mikrovaskuläre Blutungen | Bis zur Blutstillung | Thrombozytenzahlen für 2–3 Tage auf Werten von 50.000–100.000/μl halten | Greinacher et al. 2006 |

* Die Zahlenangaben in der Literatur sind hierzu nicht einheitlich. Bei besonders hohem Blutungsrisiko wird eine Thrombozytenzahl von 100.000/μl angestrebt, damit ein Sicherheitsspielraum bei intraoperativem Abfall der Thrombozytenwerte vorhanden ist.



### Serologische Diagnostik bei refraktären Patienten

Antikörper gegen HLA Klasse I sind die häufigste Ursache für einen immunologisch induzierten Refraktärzustand (Howard u. Perkins 1978; Murphy u. Waters 1985). HLA-Klasse-I-spezifische Antikörper sind in 15–30% mit zusätzlichen HPA-Antikörpern assoziiert (Schnaidt et al. 1996; Kiefel et al. et al. 2001). Bei nachgewiesenen Alloantikörpern sollten Thrombozyten transfundiert werden, die HLA- und/oder HPA-verträglich sind (McFarland et al. 1989; Gelb u. Leavitt 1997; Petz et al. 2000; Langenscheidt et al. 1988; Bierling et al. 1989).

Eine serologische Verträglichkeitsprobe kann bei Thrombozytentransfusionen wie bei Erythrozytentransfusionen durchgeführt werden. Hierbei werden die Thrombozyten gegen das Empfängerserum getestet. Bei Patienten mit nachgewiesenen thrombozytenreaktiven Antikörpern erzielt man mit Präparaten, die in dieser Untersuchung (Crossmatch) verträglich getestet werden, ein höheres Thrombozyteninkrement als bei positivem Crossmatch (O'Connell et al. 1992; Gelb u. Leavitt 1997; Petz et al. 2000).

Wird der Transfusionserfolg anhand des Thrombozyteninkrements überprüft, kann frühzeitig eine weitere Immunisierung erkannt werden. Hierzu wird die Thrombozytenzahl vor Transfusion sowie 1 h und annähernd 20 h nach Transfusion bestimmt. Eine »normalisierte« Maßzahl stellt das korrigierte Inkrement (»corrected count increment«, CCI) dar (Delaflor-Weiss u. Mintz 2000).

CCI = (Thrombozyteninkrement [/μl] × Körperoberfläche [$m^2$]) / Thrombozytendosis in $10^{11}$.

Bei Refraktärzuständen betragen nach 1 h gemessene korrigierte Inkremente <7.500, nach 20 h bestimmte Werte <4.500.

### Versorgung breit immunisierter Patienten

Gelingt es nicht, immunologisch kompatible Thrombozyten zu finden, kann bei Patienten mit manifester Blutung die Gabe mehrerer TK eine kurzfristige Blutstillung bewirken. Die intravenöse Gabe von hoch dosiertem IgG (i.v.-IgG) zusammen mit Thrombozytentransfusionen ist dabei nicht wirksamer als die Gabe von Thrombozyten alleine (Lee et al. 1987; Kickler et al. 1990).

Bei lebensbedrohlichen Blutungen kann die Gabe von rFVIIa versucht werden.

## 50.6.4 Nebenwirkungen

### Infektionsübertragungsrisiko von Thrombozytenkonzentraten

Thrombozytenkonzentrate können sehr selten Virusinfektionen übertragen (Hepatitis B 1:320.000 bis 1:500.000; Hepatitis C <1:13.000.000; HIV <1:11.000.000; Stark et al. 2002; Roth u. Seifried 2002). Ein Unterschied des Übertragungsrisikos dieser Viren durch Pool-TK oder Apherese-TK ist nicht bekannt.

**! Ein größeres Problem stellt die bakterielle Verkeimung der bei 22°C gelagerten Thrombozytenkonzentrate dar. Ein positiver Nachweis in der Bakterienkultur findet sich bei etwa 0,25% der untersuchten Präparate (Munsgaard et al. 2004).**

Die klinische Relevanz dieses Befunds ist bisher nicht geklärt. Die Transfusion eines bakteriell kontaminierten Blutpräparats kann in seltenen Fällen eine Sepsis verursachen und führt in sehr seltenen Fällen zu einer akuten Sofortreaktion mit Blutdruckabfall und Schocksymptomatik. Die

Kontaminationsrate bei Verabreichung von Pool-TK ist nicht höher als bei Apherese-TK (Munsgaard et al. 2004). Nach einer Untersuchung von Andreu und Mitarbeitern (2002) liegt das Risiko einer bakteriellen Infektionsübertragung für Pool-TK bei etwa 13 Ereignissen und für Apherese-TK bei 69 Ereignissen auf $10^6$ Transfusionen. Wegen des Risikos der bakteriellen Kontamination dürfen eröffnete Thrombozytenkonzentrate nicht gelagert werden.

### Febrile und allergische Transfusionsreaktionen

Diese Reaktionen können während oder nach einer Transfusion von Thrombozytenkonzentraten auftreten (Inzidenz 1,5–7%, unabhängig von der Art des Thrombozytenkonzentrats; Klüter et al. 1999; Heddle et al. 2002). Sie verlaufen in der Regel mild, sehr selten treten anaphylaktische Reaktionen auf. In diesen Fällen liegt oft ein IgA-Mangel beim Patienten vor.

### Transfusionsassoziierte akute Lungeninsuffizienz (TRALI)

**! Die »transfusion related acute lung injury« (TRALI) ist in Europa nach der AB0-inkompatiblen Gabe von Blutkonserven die zweithäufigste, in den USA sogar die häufigste Todesursache bei Bluttransfusionen (Holness et al. 2004).**

Sie ist gekennzeichnet durch akute Atemnot während oder innerhalb von 6 h nach Bluttransfusion, verbunden mit bilateralen Lungeninfiltrationen (Lungenödem) ohne Anhalt für eine Herzinsuffizienz oder Volumenüberladung.

Verursacht wird das TRALI-Syndrom durch Granulozyten- und HLA-Antikörper. In den meisten Fällen werden Antikörper des Spenders mit der Blutkonserve übertragen und reagieren dann mit den Leukozyten des Empfängers. Selten reagieren beim TRALI-Syndrom Empfängerantikörper mit den Granulozyten des Spenders (Bux et al. 1996).

Die Blutspender, deren Plasma TRALI auslöst, können klinisch nicht erkannt werden. Meistens sind es Frauen, die sich im Rahmen einer Schwangerschaft gegen Granulozyten- oder HLA-Antigene immunisiert haben. Da modern hergestellte Erythrozytenkonzentrate praktisch kein Plasma und nur wenige Granulozyten enthalten, wird das TRALI-Syndrom heutzutage v. a. nach Gabe von Frischplasma und Thrombozytenkonzentraten beobachtet. Durch die Bindung der Antikörper aus der Blutkonserve an die Granulozyten des Empfängers werden diese aktiviert. Es kommt zur Expression von Adhäsionsmolekülen, Transmigration von Granulozyten in den interstitiellen Raum zwischen Alveolar- und Gefäßendothel der Lunge und zur Ausschüttung von Zytokinen, Proteasen und Sauerstoffradikalen. Dies verursacht eine Schädigung der Kapillarwände mit folgender Hyperpermeabilität. Es entwickelt sich ein Lungenödem. 10% der betroffenen Patienten sterben an dieser Komplikation.

## 50.6.5 Dokumentationspflicht

Gemäß den Richtlinien der Bundesärztekammer in ihrer jeweils aktuellen Fassung muss, wie für andere Blutprodukte auch, die Gabe von Thrombozytenkonzentraten mit Zeitpunkt und Präparatenummer in der Krankenakte eindeutig dokumentiert werden.

## Literatur

Anderson NA, Gray S, Copplestone JA et al. (1996) A prospectice randomized study of three types of platelet concentrates in patients with haematological malignancy: corrected platelet count increments and frequency of nonhaemolytic febrile transfusion reactions. Transfus Med 6: 33–39
Andreu G, Morel P, Forestier F, Debeir J, Rebibo D, Janvier G, Hervé P (2002) Hemovigilance netork in France: organization and analysis of immediate transfusion incident reports from 1994 to 1998. Transfusion 42: 1356–1364
Arnold DM, Heddle N M, Kulczycky M, Carruthers J, Sigouin C, Blajchman MA (2006) In vivo recovery and survival of apheresis and whole blood-derived platelets: a paired comparison in healthy volunteers Transfusion 46: 257–264
Beilin Y, Zahn J, Comerford M (1997) Safe epidural analgesia in thirty patients with platelet counts between 69,000 and 98,000 mm(-3). Anesth Analg 85: 385–388
Benjamin RJ, Antin JH (1999) AB0 incompatible bone marrow transplantation: the transfuson of incompatible plasma my exacerbate regimen-related toxicity. Transfusion 39: 1273–4
Benjamin RJ, Mcgurk S, Ralston MS et al. (1999) AB0 incompatibility as an adverse risk factor for survival after allogeneic bone marrow transplantation. Transfusion 39: 179–87
Bierling P, Fromont P, Bettaieb A, Duedari N (1989) Anti-Br(a) antibodies in the French population [letter]. Br J Haematol 73: 428–429
Blumberg N, Heal JM, Hick GL et al. (2001) Association of AB0-mismatched platelet transfusions with morbidity and mortality in cardiac surgery. Transfusion 41: 790–3
Bravo AA, Sheth SG, Chopra S (2001) Liver biopsy. N Engl J Med 344: 495–500
Bux J, Becker F, Seeger W, Kilpatrick D, Chatman J, Waters A (1996) Transfusion related acute lung injury due to HLA-A2-specific antibodies in recipient and NB1-specific antibodies in donor blood. Br J Heamatol 93: 707–71
Contreras M (1998) Final statement from the consensus conference on platelet transfusion. Transfusion 38: 796–797
Delaflor-Weiss E, Mintz PD (2000) The evaluation and management of platelet refractoriness and alloimmunization. Transfus Med Rev 14: 180–196
Duquesnoy RJ, Anderson AJ, Tomasulo PA et al. (1979) AB0 compatibility and platelet transfusions of alloimmunized thombocytopenic patients. Blood 54: 595–9
Edelson RN, Chernik NL, Posner JB (1974) Spinal subdural hematomas complicating lumbar puncture. Arch Neurol 31: 134–137
Gelb AB, Leavitt AD (1997) Crossmatch-compatible platelets improve corrected count increments in patients who are refractory to randomly selected platelets. Transfusion 37: 624–630
Godeau B, Chevret S, Varet B et al.; rench ATIP Study Group (2002) Intravenous immunoglobulin or high-dose methylprednisolone, with or without oral prednisone, for adults with untreated severe autoimmune thrombocytopenic purpura: a randomised, multicentre trial. Lancet 359: 23–9

Greinacher A, Kiefel V, Klüter H, Kroll H, Pötzsch B, Riess H (2006) Empfehlungen zur Thrombozytentransfusion der Thrombozyten-Arbeitsgruppe der DGTI, GTH und DGHO. Transfus Med Hemoth 33: 528–543

Heal JM, Blumberg N, Masel D (1987) An evaluation of crossmatching, HLA, and AB0 matching for platelet transfusions to refractory patients. Blood 70: 23–30

Heal JM, Blumberg N (2004) Optimizing platelet transfusion therapy. Blood 18(3): 149–65 [review]

Heal JM, Masel D, Rowe JM et al. (1993) Circulating immune complexes involving the AB0 system after platelet transfusion. Br J Haematol 85: 566–572

Heal JM, Rowe JM, Blumberg N (1993) AB0 and platelet transfusion revisited. Ann Hematol 66: 309–14

Heckman KD, Weiner GJ, Davis CS, Strauss RG, Jones MP, Burns CP (1997) Randomized study of prophylactic platelet transfusion threshold during induction therapy for adult acute leukemia: 10,000/microL versus 20,000/microL. J Clin Oncol 15: 1143–9

Heddle NM, Blajchman MA, Meyer RM et al. (2002) A randomised controlled trial comparing the frequency of acute reactions to plasma-removed platelets and prestorage WBC-reduced platelets. Transfusion 42: 556–566

Hew-Wing P, Rolbin SH, Hew E, Amato D (1989) Epidural anaesthesia and thrombocytopenia. Anesthesia 44: 775–777

Holness L, Knippen MA, Simmons L, Lachenbruch PA (2004) Fatalities caused by TRALI. Transfus Med Rev 18: 184–188

Howard JE, Perkins HA (1978) The natural history of alloimmunization to platelets. Transfusion 18: 496–503

Kickler T, Braine H, Piantadosi S, Ness PM, Herman JH, Rothko K (1990) A randomized, placebo-controlled trial of intravenous gammaglobulin in alloimmunized thrombcytopenic patients. Blood 75: 313–316

Kiefel V, Bassler D, Kroll H et al. (2006) Antigen-positive platelet transfusion in neonatal alloimmune thrombocytopenia (NAIT). Blood 107: 3761–3763

Kiefel V, König C, Kroll H, Santoso S (2001) Platelet alloantibodies in transfused patients. Transfusion 41: 766–770

Klumpp TR, Herman JH, Innis S et al. (1996) Factors associated with response to platelet transfusions following hematopoietic stem cell transplantation. Bone Marrow Transplant 17: 1035–41

Klüter H, Bubel S, Kirchner H, Wilhelm D (1999) Febrile and allergic transfusion reactions after transfusion of white cell-poor platelet preparations. Transfusion 39: 1179–83

Klüter H, Dörges I, Maass E, Wagner T, Bartels H, Kirchner H (1996) In-vivo evaluation of random donor platelet concentrates from pooled buffy coats. Ann Hematol 73: 85–89

Kroll H, Carl B, Santoso S, Bux J, Bein G (2001) Workshop report on the genotyping of blood cell alloantigens. Transfusion Medicine 11: 211–219

Kroll H, Kiefel V, Santoso S (1998) Clinical aspects and typing of platelet alloantigens. Vox Sanguinis 74: 345–354

Kroll H, Kiefel V, Giers G, Bald R, Hoch J, Hanfland P, Hansmann M, Mueller-Eckhardt C (1994) Maternal intravenous immunoglobulin treatment does not prevent intracranial haemorrhage in fetal alloimmune thrombocytopenia. Transfusion Medicine 4: 293–296

Kroll H, Yates J, Santoso S (2005) Immunization against a low-frequency human platelet alloantigen in fetal alloimmune thrombocytopenia is not a single event: characterization by the combined use of reference DNA and novel allele-specific cell lines expressing recombinant antigens. Transfusion 45: 353–8

Langenscheidt F, Kiefel V, Santoso S, Mueller-Eckhardt C (1988) Platelet transfusion refractoriness associated with two rare platelet-specific alloantibodies (anti-Bak(a) and anti-Pl(A2)) and multiple HLA-antibodies. Transfusion 28: 597–600

Lawrence JB, Yomtovian RA, Hammons T, Masarik SR, Chongkolwatana V, Creger RJ, Manka A, Lazarus HM (2001) Lowering the prophylactic platelet transfusion threshold: a prospective analysis. Leuk Lymphoma 41: 67–76

Lee EJ, Schiffer CA (1989) AB0 incompatibility can influence the results of platelet transfusion. Results of a randomized trial. Transfusion 29: 384–389

Lee EJ, Norris D, Schiffer CA (1987) Intravenous immune globulin for patients alloimmunized to random donor platelet transfusion. Transfusion 27: 245–247

Lin Y, Callum JL, Coovadia AS, Murphy PM (2002) Transfusion of AB0 non identiccal platelets is not associated with adverse clinical outcomes in cardiovascular surgery patients. Transfusion 42: 166–72

McFarland J, Anderson AJ, Slichter SJ (1989) Factors influencing the transfusion response to HLA-selected apheresis donor platelets in patients refractory to random platelet concentrates. Br J Haematol 73: 380–386

Miller AB, Hoogstraten B, Stachet M et al. (1981) Reporting results of cancer treatment. Cancer 47: 207–214

Mueller-Eckhardt C, Förster C, Kayser W et al. (1982) Alloimmunthrombozytopenie der Neugeborenen durch thrombozytenspezifische Antikörper (Anti-PlA1). Dtsch Med Wochenschr 107: 216–219

Mueller-Eckhardt C, Kiefel V, Grubert A, Kroll H, Weisheit M, Schmidt S, Mueller-Eckhardt G, Santoso S (1989) 348 cases of suspected neonatal alloimmune thrombocytopenia. Lancet 1: 363–366

Munksgaard L, Albjerg L, Lillevang ST, Gahrn-Hansen B, Georgsen J (2004) Detection of bacterial contamination of platelet components: six years' experience with the BacT/Alert system. Transfusion 44: 1166–1173

Murphy MF, Waters AH (1985) Immunological aspects of platelet transfusions. Br J Haematol 60: 409–414

Navarro JT, Hernandez JA, Ribera JM, Sancho JM, Oriol A, Pujol M, Milla F, Feliu E (1998) Prophylactic platelet transfusion threshold during therapy for adult acute myeloid leukemia: 10,000/microL versus 20,000/microL. Haematologica 83: 998–1000

O'Connell BA, Lee EJ, Rothko K, Hussein MA, Schiffer CA (1992) Selection of histocompatible apheresis platelet donors by cross-matching random donor platelet concentrates. Blood 79: 527–531

Petz LD, Garratty G, Calhoun L et al. (2000) Selecting donors of platelets for refractory patients on the basis of HLA antibody specificity. Transfusion 40: 1446–1456

Rebulla P, Finazzi G, Marangoni F, Avvisati G, Gugliotta L, Tognoni G, Barbui T, Mandelli F, Sirchia G (1997) The threshold for prophylactic platelet transfusions in adults with acute myeloid leukemia. Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto. N Engl J Med 337: 1870–5

Roth WK, Seifried E (2002) The German Experience with NAT. Transfusion Med 12: 255–258

Sagmeister M, Oec L, Gmur J (1999) A restrictive platelet transfusion policy allowing long-term support of outpatients with severe aplastic anemia. Blood 93: 3124–6

Samama CM, Bastien O, Forestier F et al. (2002) Antiplatelet agents in the perioperative period: expert recommendations of the French Society of Anesthesiology and Intensive Care (SFAR) 2001 – summary statement. Can J Anesth 49 : S26–35

Samama CM, Djoudi R, Lecompte T, Nathan-Denizot N, Schved J-F, and the AFSSAPS Expert Group (2005) Perioperative platelet transfusion: recommendations of the agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSaPS) 2003. Can J Anesth 52: 30–37

Slichter SJ (2004) Relationship between platelet count and bleeding risk in thrombocytopenic patients. Transfusion Medicine Reviews 18: 153–167

Schnaidt M, Northoff H, Wernet D (v) Frequency and specificity of platelet-specific alloantibodies in HLA-immunized haematologic-oncologic disorders. Transfus Med 6: 111–114

Stainsby D, MacLennan S, Hamilton PJ (2000) Management of massive blood loss: a template guide. Br J Anaesth 85: 487–491

Stanworth SJ, Hyde C, Heddle N, Rebulla P, Brunskill S, Murphy MF (v) Prophylactic platelet transfusion for haemorrhage after chemotherapy and stem cell transplantation. Cochrane Database Syst Rev 4: CD004269 [review]

Stark K, Werner E, Seeger E, Offergeld R, Altmann D, Kramer MH (2002) Infections with HIV, HBV, and HCV among Blood Donors in Germany 1998 and 1999. Infus Ther Transfus Med 29: 305–307

Strindberg J, Berlin G (1996) Transfusion of platelet concentrates – clinical evaluation of two preparations. Eur J Haematol 57: 307–311

Tinmouth A, Tannock IF, Crump M, Tomlinson G, Brandwein J, Minden M, Sutton D (2004) Low-dose prophylactic platelet transfusions in recipients of an autologous peripheral blood progenitor cell transplant and patients with acute leukemia: a randomized controlled trial with a sequential Bayesian design. Transfusion 44: 1711–1719

Vandermeulen EP, Van Aken H, Vermylen J (1994) Anticoagulants and spinal-epidural anaesthesia. Anesth Analg 79: 1165–1177

Wandt H, Ehninger G, Gallmeier WM (2001) New strategies for prophylactic platelet transfusion in patients with hematologic diseases. Oncologist 6: 446–450 [review]

Wandt H, Frank M, Ehninger G, Schneider C et al. (1998) Safety and cost effectiveness of a 10 x 10(9)/L trigger for prophylactic platelet transfusions compared with the traditional 20 x 10(9)/L trigger: a prospective comparative trial in 105 patients with acute myeloid leukemia. Blood 91: 3601–3606

Weis SM, Hert RC, Gianola FJ, Clark JG, Crawford SW (1993) Complications of fiberoptic bronchoscopy in thrombocytopenic patients. Chest 104: 1025–1028

Williamson LM, Hackett G, Rennie J etn al. (1998) The natural history of fetomaternal alloimmunization to the platelet-specific antigen HPA-1a (PlA1, Zwa) as determined by antenatal screening. Blood 92: 2280–2287

Zalneraitis EL, Young RSK, Krishnamoorthy KS (1979) Intracranial hemorrhage in utero as a complication of isoimmune thrombocytopenia. J Pediatr 95: 611–614

## 50.7 Thrombopoetin und Thrombopoetinanaloga

*H.-G. Kopp, R. Möhle, L. Kanz*




Thrombopoetin (TPO) wird in der Leber produziert und steuert die Thrombozytopoese durch Stimulation der Proliferation, des Überlebens und der Differenzierung von thrombopoetischen Zellen in hämatopoetische Stamm- und Progenitorzellen. TPO wird konstitutiv produziert und nach Bindung an seinen Rezeptor auf hämatopoetischen Stamm- und Progenitorzellen und Thrombozyten internalisiert und abgebaut. Die TPO-Konzentration im Plasma wird damit direkt durch die Megakaryozyten- und Thrombozytenmasse determiniert.

Ähnlich wie bei dem strukturverwandten Erythropoetin, dessen rekombinante Form in der Klinik zur Therapie der renalen Anämie sowie von chemotherapieinduzierten Anämien eingesetzt wird, sind die Wirkungen von TPO in einigen von Thrombozytopenie geprägten klinischen Situationen wünschenswert. Durch die immunogene Wirkung von trunkiertem, pegyliertem rekombinantem humanem TPO erlebte die Entwicklung thrombopoetischer Wachstumsfaktoren allerdings einen Rückschlag. Mittlerweile stehen jedoch zahlreiche Substanzen ohne Sequenzhomologie zu TPO zur Verfügung. AMG 531 und Eltrombopag werden in absehbarer Zeit in der Therapie der idiopathischen thrombozytopenischen Purpura (ITP) und anderen mit Thrombozytopenie einhergehenden Erkrankungen zum Einsatz kommen.

### 50.7.1 Einführung

Der Begriff Thrombopoetin wurde 1958 von Kelemen als Beschreibung für einen plasmatischen Faktor eingeführt, dessen Transfusion in Versuchstieren einen Anstieg der Thrombozyten bewirkt (Kelemen et al. 1958). Inzwischen herrscht Konsens, dass Thrombopoetin (auch: TPO, mpl-Ligand [mpl = myeloproliferative leukemia virus oncogene]), »megakaryocyte growth and development factor« [MGDF]) das bedeutendste Zytokin in der Regulation der Thrombozytopoese darstellt (Kuter 2007). TPO wirkt ausschließlich durch Bindung an den TPO-Rezeptor c-mpl (siehe unten).

Interessanterweise sind TPO-defiziente Mäuse zwar thrombozytopen, aber die Thrombozytenzahlen sind lediglich auf ca. 10–20% der üblichen Menge reduziert. Dement-

sprechend weisen die Tiere keine hämorrhagische Diathese auf (De Sauvage et al. 1994). Es konnte gezeigt werden, dass auch nach Knockout von TPO bzw. des TPO-Rezeptors c-mpl in Mäusen eine Stimulation der Thrombozytopoese durch Applikation von Chemokinen und Zytokinen wie CXCL-12 (»chemokine [C-X-C motif] ligand 12 [stromal cell-derived factor 1]) und bFGF (fibroblast growth factor 2 [basic]) erreicht werden kann. TPO ist also von zentraler, nicht jedoch von essenzieller Bedeutung für die Megakaryopoese (Avecilla et al. 2004).

Neben der Wirkung auf Progenitoren der Megakaryopoese wurde TPO auch ein Effekt auf das Überleben und die Proliferation hämatopoetischer Stammzellen zugeschrieben. Hämatopoetische Stammzellen exprimieren den TPO-Rezeptor, und es existieren zahlreiche Arbeiten, die Evidenz für einen verminderten Stammzellpool in TPO- bzw. c-mpl-defizienten Mäusen dokumentieren. Auch bei der durch eine c-mpl-Mutation bedingten, seltenen kongenitalen amegakaryozytären Thrombozytopenie (CAMT) des Menschen findet man neben einer Verringerung der thrombopoetischen Zellen regelhaft einen klinischen Verlauf, der in eine aplastische Anämie mündet.

Neuere Daten allerdings legen nahe, dass TPO weniger auf der Ebene der hämatopoetischen Stammzellen, sondern eher auf dem Niveau der multipotenten Progenitorzellen wirksam ist. Das heißt, dass nicht die Zahl der hämatopoetischen Stammzellen durch TPO-Signaling moduliert wird, sondern die proliferative Kapazität differenzierterer hämatopoetischer Progenitorzellen (Abkowitz et al. 2007). Diese Daten haben klinische Bedeutung in der Behandlung von Patienten mit CAMT: Eine Transplantation geringer Mengen hämatopoetischer Stammzellen mit Wildtyp-c-mpl bzw. genetisch korrigierter CAMT-Stammzellen müsste aufgrund des Überlebens- und Proliferationsvorteils der aus diesen Zellen hervorgehenden frühen Progenitorzellen genügen, die Thrombozytopenie und im Verlauf die aplastische Anämie zu verhindern.

TPO ist ein 30-kDa-Glykoprotein mit einer Sequenz aus 332 Aminosäuren und 2 Strukturdomänen: Der 153 Aminosäuren umfassende N-Terminus scheint für die biologische Wirkung hauptverantwortlich zu sein und weist hohe Sequenzhomologie zum Erythropoetin auf, während die C-terminalen Aminosäuren 154–332 wahrscheinlich v. a. kinetische Bedeutung haben; die Deletion des C-Terminus vermindert die Bioverfügbarkeit nach parenteraler Gabe.

Der Rezeptor für Thrombopoetin ist das Genprodukt des humanen c-mpl-Gens. Es handelt sich dabei um ein dem v-mpl-Gen (transformierendes Gen des »murine myeloproliferative leukemia virus«) homologes Protoonkogen, das 1992 kloniert wurde. c-mpl signalisiert nach Bindung von TPO als Angehöriger der Zytokinrezeptorfamilie über den JAK-STAT-Pfad. TPO selbst wurde als c-mpl-Ligand sekundär durch Bindungsstudien identifiziert und 1994 auf Chromosom 3p27 lokalisiert und kloniert.

TPO wird hauptsächlich in der Leber und in geringeren Mengen auch in Nieren, Gehirn und Testes produziert. Ob die letzteren Organe allerdings zur Produktion physiologisch relevanter Mengen beitragen, ist unklar. Die hepatische Expression scheint konstitutiv zu sein, wobei die Konzentration des zirkulierenden TPO bestimmt wird durch das Ausmaß der Bindung an c-mpl auf Megakaryozyten und Thrombozyten mit konsekutiver Elimination der TPO-c-mpl-Komplexe (Scheding et al. 2002).

**! Dementsprechend ist die TPO-Konzentration in Knochenmark und peripherem Blut invers korreliert mit der Megakaryozyten- bzw. Thrombozytenmenge.**

Aus diesen Zusammenhängen erklärt sich wahrscheinlich das Phänomen der verzögerten Regeneration der Thrombozytopoese z. B. nach myelosuppressiver Therapie bei Gabe von Thrombozytenkonzentraten. Bei Immunthrombozytopenien kommt es durch den gesteigerten Umsatz mit verkürzter Lebensdauer der Thrombozyten nicht zu der Erhöhung des TPO-Spiegels, die aufgrund der niedrigen Thrombozytenkonzentration zu erwarten wäre.

**! Daher besteht in der Therapie der ITP prinzipiell eine Behandlungsoption mit TPO bzw. TPO-Analoga.**

Weitere mögliche Indikationen für die Therapie mit c-mpl-Agonisten sind:

- Stimulation der Thrombozytopoese vor Thrombozytenapherese in der Herstellung von Thrombozytenkonzentraten,
- Verbesserung des Sammelergebnisses bei der Stammzellapherese in Kombination mit G-CSF,
- Beschleunigung der Regeneration der Thrombozytopoese nach myelosuppressiver Chemotherapie oder Bestrahlung bzw. nach anderen myelotoxischen Einflüssen,
- Erhöhung der Thrombozytenzahl im Blut bei Lebererkrankungen, z. B. bei chronischer Hepatitis.

### 50.7.2 Substanzklassen und Präparate

Prinzipiell ist zwischen rekombinantem humanem TPO (rHuTPO) sowie pegyliertem und trunkiertem rTPO (PEG-rHuMGDF) auf der einen Seite und TPO-Analoga bzw. c-mpl-Agonisten auf der anderen Seite zu unterscheiden. Im Folgenden werden die einzelnen Substanzen im Hinblick auf die evaluierte Wirksamkeit, Dosierung und Applikation sowie die publizierten unerwünschten Arzneimittelwirkungen vorgestellt. Die folgenden Ergebnisse haben die internationale Einschätzung des klinischen Potenzials von TPO entscheidend beeinflusst.

Die subkutane Applikation von pegyliertem, trunkiertem TPO bzw. MGDF führte bei einigen gesunden Thrombozytenspendern zur Produktion von Antikörpern gegen MGDF, die mit endogenem TPO kreuzreagierten und in schweren Thrombozytopenien resultierten (Li et al. 2001; Basser et al. 2002). Seit dieser Beobachtung wurde die Anwendung von sowohl MGDF als auch von »full-length«-Formen von TPO verlassen, obwohl diese unerwünschte Arzneimittelwirkung für rekombinantes TPO nie beobachtet worden ist.

Umso größere Bedeutung wird den c-mpl-Agonisten zukommen. Für 2 Substanzen liegen bereits erfolgversprechende Phase-II- und Phase-III-Daten vor, und weitere c-mpl-Agonisten sind in Entwicklung. Sofern für letztere keine Anwendungserfahrungen am Menschen vorliegen, werden die entsprechenden Vertreter im Folgenden der Vollständigkeit halber nur kurz erwähnt (siehe Übersicht).

**Thrombopoetische Wachstumsfaktoren (Kuter 2001)**

- **Erste Generation:**
  - rekombinante humane Thrombopoetine: rHuTPO, PEG-rHuMGDF
  - Promegapoetin (Chimärer Il-3-Rezeptor und c-mpl-Agonist)
- **zweite Generation:**
  - c-mpl-Peptidagonisten: Romiplostim, PEG-TPOmp, Fab 59
  - c-mpl-Nichtpeptidagonisten: Eltrombopag (SB497115, Promacta), AKR-501
  - c-mpl-agonistische Antikörper: VB22B sc(Fv)2

### Rekombinantes humanes TPO (rHuTPO)

rHuTPO ist ein vollständig glykosyliertes Protein mit derselben Aminosäurensequenz wie TPO und wurde aus CHO-Zellen (»chinese hamster ovary«) gewonnen. Die Molekularmasse von 90 kDa weicht geringgradig von TPO (95 kDa) ab, was auf ein verändertes Glykosylierungsmuster zurückgeführt wird. rHuTPO hat nach intravenöser Gabe eine Halbwertszeit von ca. 20–30 h und führte innerhalb von 4 Tagen zu einem deutlichen Thrombozytenanstieg, der sein Maximum im Mittel 12 Tage nach Injektion erreichte (Vadhan-Raj 1998).

Nach nicht myeloablativer cisplatinhaltiger Chemotherapie konnte eine Therapie mit rHuTPO sowohl den Thrombozytennadir abschwächen, als auch die Dauer der Thrombozytopenie verkürzen, was in einem verringerten Bedarf an Thrombozytentransfusionen resultierte (Vadhan-Raj et al. 1997). Während der Behandlung metastasierter Sarkome mit Adriamycin und Ifosfamid war das Timing der rHuTPO-Gabe dabei entscheidend: Durch Einzelgaben jeweils vor und nach den geplanten Therapiezyklen konnte der Transfusionsbedarf an Thrombozytenkonzentraten deutlich gesenkt werden (Vadhan-Raj et al. 2003).

In einer Studie zur Arzneimittelsicherheit und -aktivität von rHuTPO in der Mobilisation autologer hämatopoetischer Stammzellen wurden 29 Patientinnen mit Mammakarzinom, die sowohl rHuTPO als auch G-CSF (Granulozytenkolonie-stimulierender Faktor) erhielten, mit einer Gruppe von 20 identisch vorbehandelten Patientinnen, welche nur G-CSF zur Stammzellmobilisation erhielten, verglichen. Die Ernte von $CD34^{+}$-Zellen konnte durch die Kombinationsbehandlung deutlich verbessert bzw. die Anzahl der Apheresesitzungen vermindert werden. Entsprechend verkürzten sich die Neutropenie- und die Thrombopeniephase nach Hochdosischemotherapie und autologer Transplantation mit diesen Zellen um jeweils einen Tag. Zudem bestand ein leicht verringertes Transfusionsbedürfnis für Thrombozyten- und Erythrozytenkonzentrate (Somlo et al. 1999). Auch Daten aus Tierversuchen zeigen, dass die Behandlung des Stammzelldonors mit rHuTPO zur beschleunigten Regeneration der Thrombozytopoese im Empfänger resultiert (Fibbe et al. 1995).

Allerdings war die Anwendung von rHuTPO ineffektiv im Sinne einer verkürzten Thrombozytopenie, wenn es nach myeloablativer Therapie im Rahmen von allogenen Stammzelltransplantationen angewendet wurde (Nash et al. 2000). Auch nach einer Induktionstherapie zur Behandlung akuter myeloischer Leukämien war eine beschleunigte Regeneration der Thrombozytopoese nicht dokumentierbar, bei allerdings deutlich gesteigerter Megakaryopoese im Knochenmark derselben Patienten (Douglas et al. 2002).

### Pegyliertes, trunkiertes humanes TPO (PEG-rHuMGDF)

Pegylierter rekombinanter humaner Megakaryozytenwachstums- und Entwicklungsfaktor (PEG-rHuMGDF) besteht aus den 163 Aminosäuren des Aminoterminus des TPO in Kopplung an eine Polyethylenglykoluntereinheit von 20 kDa. Das pegylierte Protein hat eine Molekularmasse von ca. 60 kDa und eine Halbwertszeit nach subkutaner Injektion von 25–35 h. Hierbei ist die Pegylierung von entscheidender Bedeutung, denn ohne die PEG-Untereinheit wird rHuMGDF sofort eliminiert und ist kaum wirksam. PEG-rHuMGDF führt dosisabhängig zu einem Thrombozytenanstieg, der nach 5 Tagen beginnt und sein Maximum ca. 10–14 Tage nach Injektion erreicht (Kuter et al. 2001).

Zum Einsatz von PEG-rHuMGDF existiert eine größere Menge klinischer Daten im Vergleich zu rHuTPO. Ähnlich wie bei rHuTPO konnte gezeigt werden, dass PEG-rHuMGDF nach nicht myeloablativen Chemotherapien den Plättchennadir abschwächt und die Thrombozytopeniedauer verkürzt. Dieser Effekt scheint sogar mit einer

Einzeldosis PEG-rHu-MGDF erreichbar zu sein (Basser et al. 1996; Basser et al. 2000).

Auch Daten zur Therapie der Immunthrombozytopenie liegen vor. Sie zeigen, dass PEG-rHu-MGDF in der Behandlung dieser Erkrankung effektiv ist, d. h. es konnten Anstiege der Thrombozyten erreicht werden. Gesunde Spender von Thrombozytenkonzentraten zeigten eine dosisabhängige Steigerung der Produktion funktionell intakter Thrombozyten (Kuter et al. 2001). Nach myeloablativer Konditionierung für autologe Stammzelltransplantationen war PEG-rHu-MGDF – ähnlich wie rHuTPO – ineffektiv in der Verkürzung der Thrombopeniephase (Basser et al. 1997; Bolwell et al. 2000; Schuster et al. 2002).



Die für das Schicksal von PEG-rHuMGDF entscheidende Studie wurde mit über 1.000 gesunden Probanden durchgeführt, von denen 538 PEG-rHuMGDF (bis zu 3 Dosen à 3 µg/kgKG alle 28 Tage) und 528 Placebo erhielten. Bei 13 Patienten der Verumgruppe kam es allerdings zur Thrombozytopenie im Rahmen einer Antikörperantwort gegen PEG-rHuMGDF mit Kreuzreaktion gegen endogenes Thrombopoetin (Li et al. 2001).

**! Aufgrund dieser Ergebnisse wurde der klinische Einsatz von thrombopoetischen Wachstumsfaktoren der ersten Generation (rHuTPO und PEG-rHuMGDF) komplett eingestellt.**

### Promegapoetin

Obwohl dieser Designeragonist für den Il-3-Rezeptor und den TPO-Rezeptor sich im Tierversuch und in vitro als wirksamer Stimulator der Megakaryo- bzw. Thrombozytopoese erwies (Doshi et al. 2001), fand eine klinische Weiterentwicklung nicht statt (Kuter 2007).

### c-mpl-Peptidagonisten

Peptidagonisten am TPO-Rezeptor ohne Sequenzhomologie zu Thrombopoetin wurden bereits 1997 beschrieben (Cwirla et al. 1997). Das Problem der kurzen In-vivo-Halbwertszeiten der Peptidagonisten wurde von verschiedenen Gruppen z. B. durch Pegylierung oder Bindung an Ig-Fragmente gelöst.

#### Romiplostim (AMG 531)

Hier handelt es sich um Designer-»Peptibody«, d. h. um einen Peptidagonisten am TPO-Rezeptor, dessen Peptidkomponente aufgrund ihrer Tertiärstruktur kompetitiv an c-mpl bindet, aber keine Sequenzhomologie zu endogenem TPO aufweist. Die c-mpl-bindende Untereinheit ist kovalent an ein IgG-Fc-Fragment gebunden, das die Halbwertszeit des Moleküls durch Bindung an den endothelialen FcRn-Recycling-Rezeptor (neonataler Fc-Rezeptor) verlängert (Wang et al. 2004). Daten aus Phase-I-Studien zeigten einen dosisabhängigen Effekt auf die Thrombozytenproduktion.

**! Eine klinisch effektive Dosis von 2,0 µg/kgKG wurde ermittelt und resultiert in einer Verdopplung der Thrombozytenzahlen innerhalb von 5 Tagen mit einem Maximaleffekt nach 12–15 Tagen.**

Romiplostim ist nach intravenöser und nach subkutaner Applikation aktiv und war bisher nicht mit Antikörperbildung assoziiert.

Mittlerweile existieren Daten aus Studien der Phasen I–III mit ITP-Patienten. Hier wurden Patienten mit Immunthrombozytopenie dauerhaft mit Romiplostim behandelt. In allen Fällen war Romiplostim in der Erhöhung der Thrombozytenzahlen effektiv (Bussel et al. 2006b; Kuter et al. 2008). Insgesamt wurden in den beiden großen Studien 271 Patienten mit chronischer ITP mit Romiplostim behandelt. Der primäre Endpunkt »dauerhafter Thrombozytenanstieg« war in den placebokontrollierten Studien definiert als Thrombozytenkonzentration über 50.000/µl in mindestens 6 der wöchentlich analysierten Blutbildern während der letzten 8 Behandlungswochen mit Romiplostim (Gesamtbehandlungsdauer 24 Wochen). 61% der nicht splenektomierten und 38% der splenektomierten Patienten erreichten diesen Endpunkt.

Romiplostim wird von der Firma Amgen unter dem Handelsnamen NPlate® vertrieben und ist seit dem 22.08.2008 von der Amerikanischen Arzneimittelzulassungsbehörde FDA zur Behandlung der chronischen therapierefraktären ITP (nach Therapieversagen von Kortikosteroiden, Immunglobulinen oder Splenektomie) zugelassen (U.S. Food and Drug Administration, Drug Information vom 25.08.08, www.fda.gov).

#### Pegyliertes TPO-mimetisches Peptid (PEG-TPOmp)

Hier wurde die Pegylierung gewählt, um die Halbwertszeit in vitro zu verlängern. In-vivo-Daten von Mäusen und Hunden belegen die Wirksamkeit in der Erhöhung der Thrombozytenzahlen. In einer Phase-I-Studie mit 40 gesunden, männlichen Probanden erhöhte PEG-TPOmp die Konzentration funktionell intakter Thrombozyten um das 1,4- bis 3,2-fache 10–12 Tage nach i.v.-Injektion von 0,375–3 µg/kgKG (Cerneus et al. 2005).

#### Fab 59

Ein weiteres Designer-TPO-Mimetikum wurde nach Screening von Peptiddatenbanken hergestellt, indem 2 c-mpl-bindende, aber strukturell mit TPO nicht verwandte 14-Aminosäuren-Peptide in »complementarity determining regions« (CDR) sowohl der leichten als auch der schweren Kette vollständig humaner Fab-Fragmente inseriert wurden (Frederickson et al. 2006). Das resultierende Fab 59 ist in vitro äquipotent im Vergleich zu rHuTPO. Bei Mäusen allerdings zeigt es – möglicherweise aufgrund von Unterschieden in der Bindungsstärke an den murinen TPO-Re-

zeptor – eine 30-fach verminderte Effektivität. Es existieren keine publizierten Daten zum Einsatz in Menschen.

### c-mpl-Nichtpeptidagonisten

Im Screeningverfahren wurden nicht nur Peptidbanken, sondern auch Sammlungen von »small molecules« auf ihre Effektivität in der Stimulation von Reportergenen wie z. B. STAT in TPO-abhängig wachsenden Zelllinien hin untersucht. Mehrere Gruppen haben entsprechende Daten veröffentlicht, und für 2 Nichtpeptidagonisten des TPO-Rezeptors existieren Daten zur Anwendung im Menschen.

#### Eltrombopag

Bei Eltrombopag ([3'-{N'-[1-(3,4-Dimethyl-phenyl)-3-methyl-5-oxo-1,5-dihydropyrazol-4-ilydene]hydrazino}-2'-hydroxybiphenyl-3-Carboxylsäure], SB497115, Promacta) handelt es sich um ein oral verfügbares »small molecule« mit einer relativen Molekularmasse von 546. Eltrombopag wird auf nüchternen Magen einmal täglich eingenommen und stimuliert dosisabhängig die Thrombozytopoese. Bei Einnahme von 75 mg/Tag ist eine Steigerung der Thrombozytenzahlen um mindestens das 1,5-fache ab Tag 7 zu erwarten (Jenkins et al. 2007).

**! In einer randomisierten, kontrollierten Doppelblind-Phase-II-Studie in ITP-Patienten konnte eine Reduktion der Blutungsereignisse bei Einnahme von 50 bzw. 75 mg/Tag über eine Zeitdauer von 6 Wochen demonstriert werden (Bussel 2006a).**

Nach Absetzen von Eltrombopag kam es bei den meisten Patienten zu einem erneuten Abfall der Thrombozyten. In einer weiteren Studie war Eltrombopag placebokontrolliert und dosisabhängig in Patienten mit therapierefraktärer ITP effektiv. Den primären Endpunkt (Thrombozyten ≥50.000/µl an Behandlungstag 43) erreichten 28% der mit 30 mg behandelten Patienten (durchschnittliche Thrombozytenzahl 26.000/µl), 70% der mit 50 mg (128.000/µl) und 81% der mit 75 mg behandelten Patienten (183.000/µl). Blutungsereignisse waren bei den Respondern ebenfalls reduziert (Bussel 2007).

**! Eine weitere Indikation für Eltrombopag ist die Anhebung der Thrombozytenzahlen bei Patienten mit Thrombozytopenie im Rahmen einer chronischen Hepatitis C.**

Auch hier konnte die dosisabhängige Steigerung der Thrombozytenkonzentration in einer randomisierten Phase-II-Studie gezeigt werden (McHutchinson et al. 2006; McHutchinson et al. 2007). Konsekutiv waren die Patienten mit Interferon behandelbar und schlossen die Interferontherapie in Kombination mit Eltrombopag wiederum dosisabhängig erfolgreich ab.

#### AKR-501

AKR-501 (ehemals YM 477) ist ein zweites oral verfügbares c-mpl-agonistisches »small molecule«, das in vitro und in vivo dosisabhängig eine Stimulation der Megakaryo- und Thrombozytopoese bewirkt. Im Vergleich zu Eltrombopag scheint AKR-501 potenter zu wirken. Einzeldosen von 20 mg führten zu einem ca. 1,75-fachen Thrombozytenanstieg bei gesunden Kontrollpersonen. AKR-501 wird verlässlich resorbiert und hat eine Halbwertszeit im Serum von ca. 16 h (Desjardins et al. 2006). Klinische Studien zum Stellenwert von AKR-501 in der Therapie von Patienten mit ITP, Lebererkrankungen oder nach Chemotherapie sind in Planung.

### TPO-agonistische Antikörper

Monoklonale Antikörper vereinigen mehrere wünschenswerte Eigenschaften für gezielte Therapien auf sich:
- spezifische Bindung an Zielstrukturen mit hoher Affinität,
- niedrige Immunogenität und klinische Sicherheit als Serumproteine,
- lange Halbwertszeiten.

Antikörper mit klinischen Anwendungen im Sinne einer Inhibition oder Zerstörung von Zielzellen sind seit einigen Jahren im klinischen Einsatz. Rezeptoragonistische Antikörper für die Klinik gibt es bislang allerdings nicht. 2 Substanzen, die ursprünglich aus Anti-c-mpl-Antikörpern entwickelt wurden, funktionieren im Tiermodell als wirksame c-mpl–Agonisten, ohne zytotoxisch zu wirken. Daten zur Anwendung am Menschen existieren nicht.

#### TPO-Minibodies

Hier wurden aus Anti-c-mpl-Antikörpern die variablen Regionen der schweren bzw. leichten Ketten isoliert und zu kleinen bivalenten Antikörperfragmenten umgebaut. Ein solcher Minibody (VB22B sc(Fv)2) erhöht bei Cynomolgus-Affen effektiv die Thrombozytopoese. In vitro binden solche Designermoleküle auch an mutierte TPO-Rezeptoren, wie sie bei der seltenen kongenitalen amegakaryozytären Thrombozytopenie (CAMT) auftreten (Orita et al. 2005).

#### MA01G4G344

Hier handelt es sich um einen ursprünglichen $IgG_1$-Antikörper (MA01) gegen humanes c-mpl aus der Maus. Nach Veränderung der konstanten Schwerkettenregion zu $IgG_4$ (MA01G4) und des Hinge-Abschnittes zu $IgG_3$ (MA01G4G344) erhöhte sich die agonistische Aktivität in vitro. Nach Injektion in Hu-c-mpl-exprimierende transgene Mäuse kam es nach einer einzelnen Injektion zu einer Erhöhung der Thrombozytenzahlen für länger als einen Monat (Kai et al. 2006).

### 50.7.3 Ausblick

Die Entwicklung thrombopoetischer Wachstumsfaktoren ist durch einen historischen Rückschlag gekennzeichnet. Die Bildung von Autoantikörpern mit konsekutiver, schwer behandelbarer Thrombozytopenie bei gesunden Probanden nach Gabe von PEG-rHuMGDF war andererseits eine bedeutende Lehre in der Arzneimittelentwicklung.

Mittlerweile existieren einige alternative Substanzen zur Stimulation der Thrombozytenproduktion ohne erkennbare Immunogenität. Romiplostim als c-mpl-agonistisches Designerpeptid steht in den USA seit dem 22.08.2008 zur Therapie der therapierefraktären ITP zur Verfügung. Eltrombopag als Vertreter der oral verfügbaren »small molecule«-c-mpl-Agonisten wird voraussichtlich bald klinisch zur Therapie von Patienten mit ITP oder Hepatitis-C-assoziierter Thrombozytopenie eingesetzt werden. Weitere mögliche Indikationen wie der Einsatz in gesunden Stammzell- bzw. Thrombozytenspendern oder bei Patienten nach myelosuppressiver Chemotherapie müssen geprüft werden.

Es ist zu erwarten, dass in wenigen Jahren einige weitere TPO-Mimetika Zulassungsreife erlangen werden. Auf dem Weg zur Optimierung des Einsatzes einzelner Substanzen im Individualfall sind weiterführende Studien zu Langzeiteffekten und zu krankheitsspezifischen Indikationen unverzichtbar. Insbesondere die Inzidenz unerwünschter Arzneimittelwirkungen ist bisher nicht ausreichend evaluiert. Zwar deuten erste Ergebnisse auf eine hervorragende Verträglichkeit der neuen Substanzen hin, doch bleiben mehrere Fragen zur Langzeitsicherheit offen. Darunter fallen substanzspezifische Nebenwirkungen wie Thromboseneigung durch Plättchenaktivierung oder Knochenmarkfibrose durch aus Megakaryozyten freigesetztes TGF-β sowie wachstumsfaktorassoziierte Nebenwirkungen wie die potenzielle Stimulation maligner Zellen bei Tumor- bzw. Leukämiepatienten.

### Literatur

Abkowitz JL, Chen J (2007) Studies of c-Mpl function distinguish the replication of hematopoietic stem cells from the expansion of differentiating clones. Blood 109: 5186–5190

Avecilla ST, Hattori K, Heissig B et al. (2004) Chemokine-mediated interaction of hematopoietic progenitors with the bone marrow vascular niche is required for thrombopoiesis. Nat Med 10: 64–71

Basser RL, O'Flaherty E, Green M, Edmonds M, Nichol J, Menchaca DM, Cohen B, Begley CG (2002) Development of pancytopenia with neutralizing antibodies to thrombopoietin after multicycle chemotherapy supported by megakaryocyte growth and development factor. Blood 99: 2599–2602

Basser RL, Underhill C, Davis I et al. (2000) Enhancement of platelet recovery after myelosuppressive chemotherapy by recombinant human megakaryocyte growth and development factor in patients with advanced cancer. J Clin Oncol 18: 2852–2861

Basser RL, Rasko JE, Clarke K et al. (1997) Randomized, blinded, placebo-controlled phase I trial of pegylated recombinant human megakaryocyte growth and development factor with filgrastim after dose-intensive chemotherapy in patients with advanced cancer. Blood 89: 3118–3128 [erratum in Blood 1997; 90(6): 2513]

Basser RL, Rasko JE, Clarke K et al. (1996) Thrombopoietic effects of pegylated recombinant human megakaryocyte growth and development factor (PEG-rHuMGDF) in patients with advanced cancer. Lancet 348: 1279–1281

Bolwell B, Vredenburgh J, Overmoyer B, Gilbert C, Chap L, Menchaca DM, Cruickshank S, Glaspy J (2000) Phase 1 study of pegylated recombinant human megakaryocyte growth and development factor (PEG-rHuMGDF) in breast cancer patients after autologous peripheral blood progenitor cell (PBPC) transplantation. Bone Marrow Transplant 26: 141–145

Bussel JB, Cheng G, Saleh MN et al. (2007) Eltrombopag for the treatment of chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. N Engl J Med 357(22): 2237–47

Bussel JB, Cheng G, Saleh M, Kovaleva L, Stone N, Mayer B, Jenkins J, Provan A (2006a) Analysis of Bleeding in Patients with Immune Thrombocytopenic Purpura (ITP): A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial of Eltrombopag, an Oral Platelet Growth Factor. ASH Annual Meeting Abstracts 108: 475

Bussel JB, Kuter DJ, George JN et al. (2006b) AMG 531, a thrombopoiesis-stimulating protein, for chronic ITP. N Engl J Med 355: 1672–1681

Cerneus D, Brown K, Harris R et al. (2005) Stimulation of Platelet Production in Healthy Volunteers by a Novel Pegylated Peptide-Based Thrombopoietin (TPO) Receptor Agonist. ASH Annual Meeting Abstracts 106: 1249-

Cwirla SE, Balasubramanian P, Duffin DJ et al. (1997) Peptide agonist of the thrombopoietin receptor as potent as the natural cytokine. Science 276: 1696–1699

de Sauvage FJ, Hass PE, Spencer SD et al. (1994) Stimulation of megakaryocytopoiesis and thrombopoiesis by the c-Mpl ligand. Nature 369: 533–538

Desjardins RE, Tempel DL, Lucek R, Kuter DJ (2006) Single and Multiple Oral Doses of AKR-501 (YM477) Increase the Platelet Count in Healthy Volunteers. ASH Annual Meeting Abstracts 108: 477

Doshi PD, Giri JG, Abegg AL et al. (2001) Promegapoietin, a family of chimeric growth factors, supports megakaryocyte development through activation of IL-3 and c-Mpl ligand signaling pathways. Exp Hematol 29: 1177–1184

Douglas VK, Tallman MS, Cripe LD, Peterson LC (2002) Thrombopoietin administered during induction chemotherapy to patients with acute myeloid leukemia induces transient morphologic changes that may resemble chronic myeloproliferative disorders. Am J Clin Pathol 117: 844–850

Fibbe WE, Heemskerk DP, Laterveer L, Pruijt JF, Foster D, Kaushansky K, Willemze R (1995) Accelerated reconstitution of platelets and erythrocytes after syngeneic transplantation of bone marrow cells derived from thrombopoietin pretreated donor mice. Blood 86: 3308–3313

Frederickson S, Renshaw MW, Lin B et al. (2006) A rationally designed agonist antibody fragment that functionally mimics thrombopoietin. Proc Natl Acad Sci USA 103: 14307–14312

Jenkins JM, Williams D, Deng Y, Uhl J, Kitchen V, Collins D, Erickson-Miller CL (2007) Phase 1 clinical study of eltrombopag, an oral, nonpeptide thrombopoietin receptor agonist. Blood 109: 4739–4741

Kai M, Motoki K, Yoshida H et al. (2006) Domain Subclass Conversion Improved Activity of Anti-Mpl Agonist Antibodies in the Form of Whole IgG. ASH Annual Meeting Abstracts 108: 1134

Kelemen E, Cserhati I, Tanos B (1958) Demonstration and some properties of human thrombopoietin in thrombocythaemic sera. Acta Haematol 20: 350–355

Kuter DJ, Bussel JB, Lyons RM et al. (2008) Efficacy of romiplostim in patients with chronic immune thrombocytopenic purpura: a double-blind randomised controlled trial. Lancet 371(9610): 395–403

Kuter DJ (2007) New thrombopoietic growth factors. Blood 109: 4607–4616

Kuter DJ, Goodnough LT, Romo J, DiPersio J, Peterson R, Tomita D, Sheridan W, McCullough J (2001) Thrombopoietin therapy increases platelet yields in healthy platelet donors. Blood 98: 1339–1345

Li J, Yang C, Xia Y, Bertino A, Glaspy J, Roberts M, Kuter DJ (2001) Thrombocytopenia caused by the development of antibodies to thrombopoietin. Blood 98: 3241–3248

McHutchison JG, Dusheiko G, Shiffman ML et al. (2007) Eltrombopag for Thrombocytopenia in Patients with Cirrhosis Associated with Hepatitis C. N Engl J Med 357: 2237–47

McHutchinson JG, Afdhal NH, Dusheiko G et al. (2006) Eltrombopag, an oral platelet growth factor, facilitates initiation of interferon therapy in subjects with HCV associated thrombocytopenia: results from a phase II placebo controlled, double-blind, dose-ranging study. Hepatology 44: Abstract 692A

Nash RA, Kurzrock R, DiPersio J et al. (2000) A phase I trial of recombinant human thrombopoietin in patients with delayed platelet recovery after hematopoietic stem cell transplantation. Biol Blood Marrow Transplant 6: 25–34

Orita T, Tsunoda H, Yabuta N et al. (2005) A novel therapeutic approach for thrombocytopenia by minibody agonist of the thrombopoietin receptor. Blood 105: 562–566

Scheding S, Bergmann M, Shimosaka A, Wolff P, Driessen C, Rathke G, Jaschonek K, Brugger W, Kanz L (2002) Human plasma thrombopoietin levels are regulated by binding to platelet thrombopoietin receptors in vivo. Transfusion 42: 321–327

Schuster MW, Beveridge R, Frei-Lahr D et al. (2002) The effects of pegylated recombinant human megakaryocyte growth and development factor (PEG-rHuMGDF) on platelet recovery in breast cancer patients undergoing autologous bone marrow transplantation. Exp Hematol 30: 1044–1050

Somlo G, Sniecinski I, ter Veer A et al. (1999) Recombinant human thrombopoietin in combination with granulocyte colony-stimulating factor enhances mobilization of peripheral blood progenitor cells, increases peripheral blood platelet concentration, and accelerates hematopoietic recovery following high-dose chemotherapy. Blood 93: 2798–2806

Vadhan-Raj S, Patel S, Bueso-Ramos C et al. (2003) Importance of predosing of recombinant human thrombopoietin to reduce chemotherapy-induced early thrombocytopenia. J Clin Oncol 21: 3158–3167

Vadhan-Raj S, Murray LJ, Bueso-Ramos C et al. (1997) Stimulation of megakaryocyte and platelet production by a single dose of recombinant human thrombopoietin in patients with cancer. Ann Intern Med 126: 673–681

Vadhan-Raj S (1998) Recombinant human thrombopoietin: clinical experience and in vivo biology. Semin Hematol 35: 261–268

Wang B, Nichol JL, Sullivan JT (2004) Pharmacodynamics and pharmacokinetics of AMG 531, a novel thrombopoietin receptor ligand. Clin Pharmacol Ther 76: 628–638

# 54 Antithrombotika: aktiviertes Protein C und Antithrombin

*G. Marx, K. Reinhart*

## Einleitung

Antithrombin und aktiviertes Protein C (APC) sind endogene Inhibitoren, die in Form von Konzentraten therapeutisch eingesetzt werden. Das rekombinant hergestellte APC konnte bei Patienten mit schwerer Sepsis die Letalität in einer ersten, prospektiven, randomisierten Studie senken. Folgestudien konnten das Ergebnis bisher nicht bestätigen, sodass der Stellenwert einer APC-Substitutionstherapie in der Behandlung der Sepsis unklar ist. Die wichtigste Nebenwirkung ist die Blutung.

Antithrombinkonzentrate werden aus Plasma oder rekombinant hergestellt und werden zur Behandlung des Antithrombinmangels eingesetzt. Sie sind beim angeborenen Antithrombinmangel indiziert, wenn die Gabe eines Antikoagulans kontraindiziert ist oder die Wirkung von Heparin verstärkt werden soll. Beim erworbenen Antithrombinmangel exisitieren keine durch Studien abgesicherte Antithrombinspiegel, bei denen eine Substitution erfolgen sollte. Üblich ist die Gabe erst bei Werten deutlich unter 50%.



## 54.1 Aktiviertes Protein C

Humanes aktiviertes Protein C (APC) ist ein physiologischer Inhibitor des Gerinnungssystems. Das Wirkungsprofil dieses Inhibitors umfasst neben der antithrombotischen und damit antikoagulatorischen Wirkung auch eine profibrinolytische und antiinflammatorische Wirkung. Rekombinates humanes APC und endogenes APC werden im Plasma durch Proteaseinhibitoren inaktiviert. Unter physiologischen Bedingungen ist die Plasmakonzentration von endogenem APC unterhalb der Nachweisgrenze. Als Präparat steht Drotrecogin alfa (aktiviert) zur Verfügung (rh-APC), Eli Lilly, Indianapolis, USA.

### 54.1.1 Wirkmechanismus

Die Verzahnung sich verstärkender inflammatorischer und koagulatorischer Prozesse in der Sepsis bietet neue Therapieansätze. Sepsisassoziierte Zytokine (insbesondere TNF-α) führen zu einer pathologisch gesteigerten Aktivierung des plasmatischen Gerinnungs- und Fibrinolysesystems (Martinez et al. 1999). Da der aktivierende Stimulus bei Fortbestehen der Sepsis persistiert, resultiert im Gerinnungssystem eine fortlaufende pathologische Aktivitäts- und Umsatzsteigerung. Die Aktivitätssteigerung führt zur disseminierten Fibrinablagerung, die zum sepsisassoziierten Organversagen beiträgt. Die Umsatzsteigerung führt zum Verbrauch des notwendigen Prokoagulatorenpotenzials, was eine erhöhte Blutungsneigung zur Folge hat. Physiologische Gerinnungsinhibitoren wie Protein C inaktivieren prokoagulatorische Plasmafaktoren sowie die Thrombinbildung und können somit die Ausbildung einer disseminierten intravasalen Gerinnung und Fibrinablagerung unterbrechen. Protein-C-Spiegel sind bei Patienten mit Sepsis erniedrigt (Esmon 2001a).

rh-APC weist mehrere Funktionen auf: rh-APC hemmt die Gerinnungsfaktoren Va und VIIIa und reduziert damit die im septischen Schock pathophysiologisch bedeutsame Bildung von Thrombin (Esmon 2001b). Rh-APC wirkt fibrinolytisch durch eine Inhibition von Inhibitoren der Fibrinolyse (Plasminogenaktivator-Inhibitor-1 und via Thrombininhibierung durch Reduktion der Bildung von TAFI [»thrombin activatable fibrinolysis inhibitor«]; Esmon 2001b). Zusätzlich gibt es Hinweise, dass rh-APC aufgrund einer Inhibition des nukleären Transkriptionsfaktors NFκB und nachfolgender reduzierter Produktion von proinflammatorischen Zytokinen und Apoptosefaktoren immunmodulierende Effekte aufweist (Esmon 2001c). Unter der Therapie mit rh-APC konnte eine signifikante Reduktion der D-Dimere im Plasma als ein Hinweis auf eine verminderte intravasale Fibrinbildung festgestellt werden (Bernard et al. 2001).

Die vorteilhaften antiinflammatorischen Funktionen sind jedoch zumindest teilweise unabhängig von der antikoagulatorischen Funktion von rh-APC. So führte die selektive Blockade von Faktor Xa in der experimentellen Sepsis zwar zu einer völligen Normalisierung der Gerinnungsveränderungen, die Letalität konnte durch Faktor-Xa-Inhibition im Gegensatz zur Gabe von rh-APC jedoch nicht gesenkt werden (Riewald u. Ruf 2003).

In zerbralen Ischämie-/Reperfusionsmodellen konnte in vitro (Cheng et al. 2003) und in vivo (Shibata et al. 2001) gezeigt werden, dass rh-APC die Apoptose inhibiert und antiinflammatorische und neuroprotektive Wirkung besitzt. Durch Genexpressionsprofiling bei monozytären Zellen konnte gezeigt werden, dass APC durch direkte Hemmung von NFκB die Transkription und die Expression NFκB-regulierter proinflammatorischer Gene vermindert (Joyce et al. 2001). Rh-APC konnte auch durch Hemmung von Apoptose den Sepsisverlauf im In-vitro-Modell der humanen En-

dothelzellen von Umbilikalvenen (»human umbilical vein endothelial cells«, HUVEC) positiv beeinflussen (Joyce et al. 2001).

**Rh-APC hemmt weiterhin den Transkriptionsfaktor »activator protein-1« (AP-1), der eine wichtige Funktion bei der Zellproliferation und Zelldifferenzierung spielt. Durch eine rh-APC-induzierte Zunahme der Matrixmetalloproteinase-2 (MMP-2) wird die Reepithelialisierung bei der Wundheilung gefördert.**

Die Dysregulation zwischen Thrombin und rh-APC erscheint relevant im Rahmen der Sepsis. Während der Sepsis wurde eine Abnahme der Plasmakonzentrationen von APC festgestellt. Eine mögliche Erklärung für diese Konzentrationsabnahme ist die sepsisbedingte Schädigung des Endothels, die mit einer Reduktion der Expression von Thrombomodulin und endothelialem Protein-C-Rezeptor (EPCR) auf den Endothelzellen assoziiert ist. Dieser Prozess wird vermutlich verursacht durch eine Inhibition der Gentranskription von Thrombomodulin und EPCR.

Diese In-vitro-Ergebnisse bestätigten sich in der Analyse vaskulärer Biopsien von Patienten mit schwerer Meningokokkensepsis, bei der sich eine Reduktion von endothelialem Thrombomodulin und EPCR zeigte. Interessanterweise gelang es im HUVEC- und Monozytenmodell nachzuweisen, dass rh-APC die Bildung von Mikrovesikeln induziert, die den EPCR enthalten (Perez-Casal et al. 2005). Diese Induktion war zeit- und konzentrationsabhängig von der rh-APC-Applikation und wurde abhängig durch den EPCR und PAR-1 (proteaseaktivierter Rezeptor 1) vermittelt. Dadurch könnte erklärt werden, warum appliziertes rh-APC wirkt, obwohl eine Reduktion der für die Wirkung erforderlichen EPCR bei septischen Patienten vorhanden ist. In Endothelzellen konnte gezeigt werden, dass APC durch Bindung an PAR-1 und Aktivierung der zellulären Sphingosinkinase antiinflammatorische Effekte induziert (Feistritzer et al. 2005).

Rh-APC beinflusst sowohl im Tierversuch als auch bei Patienten mit schwerer Sepsis die Mikrozirkulation. Bei Tierversuchen an Ratten konnte vitalmikroskopisch gezeigt werden, dass rh-APC die lipopolysaccharidinduzierte Leukozytenadhäsion in Arteriolen und Venolen hemmt (Lehmann et al. 2006).

**Kürzlich konnte auch bei septischen Patienten unter Verwendung der orthogonalen Polarisationsspektroskopie nachgewiesen werden, dass durch die Gabe von rh-APC die Mikrozirkulation verbessert werden konnte (De Backer et al. 2006).**

### 54.1.2 Indikationen

In einer klinischen placebokontrollierten Phase-III-Studie (PROWESS; n = 1.690) konnte die Effektivität der Therapie mit rh-APC belegt werden. Bei Patienten mit schwerer Sepsis wurde die Letalität durch rh-APC in einer Dosierung von 24 µg/kgKG/h über 96 Stunden von 30,8 auf 24,7% signifikant reduziert (Bernard et al. 2001; Abb. 54.1). Die Letalitätsreduktion war am deutlichsten bei Patienten mit einem APACHE-II-Score ≥25.

Die positiven Effekte dieses neuen Therapieansatzes auf das Überleben waren auch noch nach 12 Monaten bzw. 2,5 Jahren nachweisbar (Angus et al. 2004). Die Langzeiteffekte waren bei Patienten mit höherem APACHE-II-Score stärker ausgeprägt. Bei den Patienten mit einem APACHE-II-Score <25 zeigte sich nach 12 Monaten ein Überlebensvorteil in der Placebogruppe (65,5% in der Behandlungsgruppe versus 72,0% in der Placebogruppe; p=0,04). Bei den übrigen Zeitpunkten zeigte sich bei den Patienten mit einem APACHE-II-Score <25 kein Unterschied in der Überlebensrate.

In einer offenen Folgestudie ohne Kontrollgruppe (ENHANCE) erhielten 2.375 Patienten mit schwerer Sepsis

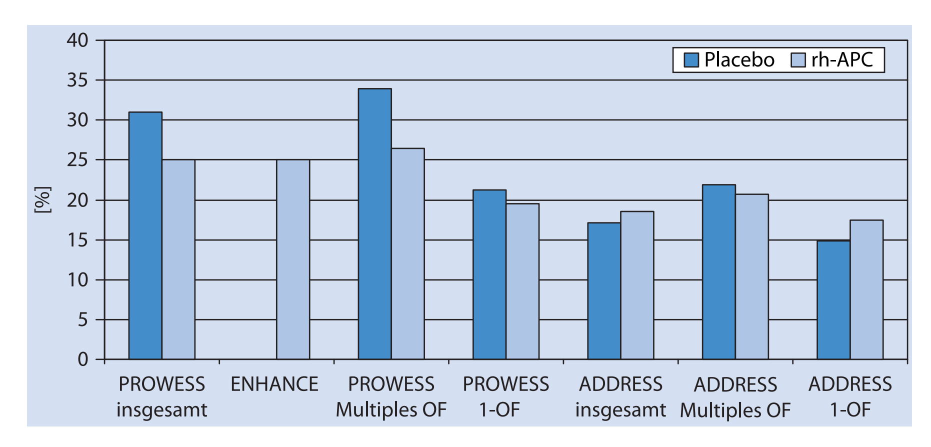



**Abb. 54.1.** 28-Tage-Letalität bei Sepsispatienten nach Behandlung mit rh-APC in den Studien PROWESS, ENHANCE und ADDRESS. Angaben in %; *OF* Organversagen

oder septischem Schock rh-APC. Die 28-Tage-Letalität betrug 25,3% und war signifikant niedriger bei den Patienten, die rh-APC innerhalb der ersten 24 h erhielten (Vincent et al. 2005; ◘ Abb. 54.1).

Andererseits konnte in einer aktuellen placebokontrollierten Studie (ADDRESS) kein positiver Effekt durch die Therapie mit rh-APC bei septischen Patienten mit 1-Organversagen oder einem APACHE-II-Score <25 gezeigt werden (Abraham et al. 2005). Die Studie wurde nach Einschluss von 2.624 Patienten frühzeitig gestoppt (initial geplante Patientenzahl betrug 11.000), da die 28-Tage-Letalität in der Placebogruppe 17,0% und in der rh-APC Gruppe 18,5% betrug (◘ Abb. 54.1). Die Krankenhausletalität war exakt gleich. Rh-APC-behandelte Patienten, bei denen in den vorhergehenden 30 Tagen eine Operation durchgeführt worden war, wiesen eine signifikant erhöhte 28-Tage-Letalität auf (21% versus 14% in der Placebogruppe). Bei den Patienten mit Multiorgandysfunktion (n=862) betrug die 28-Tage-Letalität in der rh-APC-Gruppe 20,7% versus 21,9% in der Placebogruppe. Zusätzlich konnte in dieser Studie das Ergebniss der PROWESS-Studie nicht bestätigt werden, dass Patienten mit einem APACHE-II-Score >24 besonders von der Therapie mit rh-APC profitieren. In der Subgruppe mit rh-APC behandelten Patienten und einem APACHE-II-Score >24 (n=324) war keine Letalitätsreduktion vorhanden (28-Tage-Letalität 29,5% versus 24,7% in der Placebogruppe; Parillo 2005).

In einer Metaanalyse der PROWESS- und ADDRESS-Daten, die insgesamt 4.329 Patienten umfasst, betrug die Risikoreduktion auf die 28-Tage-Letalität durch rh-APC versus Placebo 0,92 (95% Konfidenzintervall: 0,83–1,02; p=0,095; Wiedermann et al. 2005). Bei der statistischen Analyse wurde eine signifikante Heterogenität festgestellt. Bei den 1.141 analysierten Patienten mit einem APACHE-II-Score ≥25 betrug die Risikoreduktion auf die 28-Tage-Letalität durch rh-APC versus Placebo 0,8 (95% Konfidenzintervall: 0,68–0,94; p<0,007). Bei der statistischen Analyse wurde wiederum eine signifikante Heterogenität festgestellt. Dieses Ergebnis unterstreicht die Notwendigkeit einer sorgfältigen Indikationstellung. Eichacker und Mitarbeiter fordern sogar die Durchführung einer weiteren prospektiven placebokontrollierten Studie, um die Ergebnisse der PROWESS-Studie zu bestätigen (Eichacker et al. 2005).

In der Zwischenzeit wurde von der Firma Eli Lilly angekündigt, dass eine weitere Studie durchgeführt werden wird, in der randomisiert und placebokontrolliert überprüft wird, ob die Gabe von rh-APC gegen Placebo bei Patienten mit schwerer Sepsis und septischem Schock mit Multiorganversagen vorteilhaft ist.

Insgesamt ist die Gabe von rh-APC zusätzlich zur Standardtherapie indiziert unter Beachtung der Kontraindikationen bei Patienten mit schwerer Sepsis oder septischem Schock bei Vorliegen von mindestens 2 sepsisinduzierten Organversagen oder einem APACHE-II-Score ≥25 (siehe Übersicht). Rh-APC sollte nicht bei Patienten mit 1-Organversagen oder bei Patienten mit erhöhter Blutungsneigung eingesetzt werden (Deans et al. 2004). Bei Patienten mit einem APACHE-II-Score <25 sollte rh-APC auch nicht bei Vorliegen einer Mehrorgandysfunktion eingesetzt werden. Nach neuesten Empfehlungen der Europäischen Zulassungsbehörde (EMEA) sollte ein möglichst frühzeitiger Therapiebeginn mit rh-APC innerhalb von 24 h nach Einsetzen der Organdysfunktion angestrebt werden (EMEA/CHMP 2005).

**Die wichtigsten Indikationen und Kontraindikationen einer Therapie mit rh-APC**

- **Voraussetzungen:**
  - gesicherter oder hochgradiger Verdacht auf eine Infektion, z. B. Vorliegen von 3 SIRS-Kriterien (SIRS = systemic inflammatory response syndrome«) oder Vorliegen erhöhter Prokalzitoninwerte als klarer Hinweis auf eine infektionsbedingte Inflammation
  - Vorliegen von sepsisinduziertem Versagen von 2 oder mehr Organen
  - Auftreten des Organversagens vor weniger als 24 h
  - Applikation von rh-APC innerhalb von 24 h nach Erfüllen der Einschlusskriterien
  - Indikation einer Maximaltherapie in Anbetracht der Gesamtumstände
- **Kontraindikationen:**
  - akute innere Blutungen (einschließlich des Zentralnervensystems)
  - Einsatz sonstiger gerinnungsaktiver Medikamente (höher dosiertes Heparin und Thrombozytenaggregationshemmer)
  - Thrombozytenzahl <30.000/µl
  - Patienten mit allgemein erhöhtem Blutungsrisiko, z. B. Operation vor <12 h oder gastrointestinale Blutung innerhalb der letzten 6 Wochen, Risiko einer zerebralen Blutung, Traumapatienten mit Kontusionen oder Verletzungen viszeraler Organe, Ösophagusvarizen
  - schwere chronische Lebererkrankungen

Die Daten einer placebokontrollierten Studie ergaben keine Wirksamkeit von rh-APC bei pädiatrischen Patienten und zeigten eine höhere Inzidenz von ZNS-Blutungen in der rh-APC Gruppe gegenüber der Placebogruppe (EMEA/CHMP 2006). Diese Studie wurde vorzeitig gestoppt, nachdem 477 Patienten im Alter von 0–17 Jahren die Studienmedikation erhalten hatten. Die 28-Tage-Letalitäten waren

bei der Interimsanalyse nicht verschieden (17,1% in der rh-APC versus 17,3% in der Placebogruppe). Während des Behandlungszeitraums wurde in der rh-APC-Gruppe bei 5 Patienten eine ZNS-Blutung diagnostiziert versus 1 Patienten in der Placebogruppe (2,1% versus 0,4).

Aufgrund der Daten der beiden randomisierten und kontrollierten Studien PROWESS und ADDRESS ist rh-APC für die Behandlung von Patienten mit schwerer Sepsis und nur einem Organversagen nicht zugelassen. Die Daten ergaben insbesonders für die Subgruppe der Patienten mit einem Organversagen und einer kürzlich erfolgten Operation (innerhalb von 30 Tagen; PROWESS [n=98] und ADDRESS [n=636]) eine höhere 28-Tage-Letalität und eine höhere Krankenhausletalität in der mit rh-APC behandelten Gruppe im Vergleich zur Placebogruppe.

**! Die Anwendung von rh-APC ist bei Kindern unter 18 Jahren mit schwerer Sepsis oder septischem Schock nicht empfohlen. Rh-APC darf nicht bei Patienten mit schwerer Sepsis mit nur einem Organversagen eingesetzt werden.**

### 54.1.3 Dosierung und Applikation

Unter Beachtung der Kontraindikationen bei Patienten mit schwerer Sepsis oder septischem Schock sollte rh-APC in einer Dosierung von 24 µg/kgKG pro Stunde über 96 h appliziert werden. Die Applikation erfolgt nur intravenös. Bei Probanden wird 2 h nach Beginn einer rh-APC-Therapie mehr als 90% des Steady-State erreicht. Die Halbwertszeit von rh-APC beträgt 13 min.

### 54.1.4 Nebenwirkungen

Aufgrund der Beeinflussung der Gerinnung und der Fibrinolyse durch rh-APC erhöht sich das Blutungsrisiko oder ein bestehendes Blutungsrisiko kann gesteigert sein. Wichtige Kontraindikationen sind in der Übersicht (siehe oben) zusammengefasst.

Während der 28-tägigen Studienperiode war die Inzidenz schwerer Blutungen im Rahmen der PROWESS-Studie in der Behandlungsgruppe mit 3,5% deutlich höher als in der Kontrollgruppe mit 2,0% (Abb. 54.2). Die Inzidenz zerebraler Blutungen betrug 0,2% in der rh-APC-Gruppe und 0,1% in der Placebogruppe. In der offenen Folgestudie ohne Kontrollgruppe (ENHANCE) wurde bei den 2.375 Patienten mit schwerer Sepsis oder septischem Schock während der 28-tägigen Studienperiode nach rh-APC-Gabe eine erhöhte Blutungsrate im Vergleich zur PROWESS-Studie festgestellt (6,5% versus 3,5%) und eine höhere Rate an intrakraniellen Blutungen (1,5% versus 0,2%). In der ADDRESS-Studie war die Inzidenz schwerer Blutungen während der 28-tägigen Studienperiode 3,9% in der rh-APC behandelten Patientengruppe signifikant höher im Vergleich zu den mit Placebo behandelten Patienten (2,2%, p=0,01). Zerebrale Blutungen traten in der ADDRESS-Studie bei 0,5% der mit rh-APC behandelten Patienten und bei 0,4% bei mit Placebo behandelten Patienten auf.

Unter allen in verschiedenen Studien mit rh-APC behandelten Patienten (n=2.786) kam es insgesamt bei 16 Patienten zu intrakraniellen Blutungen (Bernard et al. 2003). Von diesen 16 Patienten hatten 10 Patienten entweder eine Meningitis oder aber Thrombozytenwerte unter 30.000/µl.

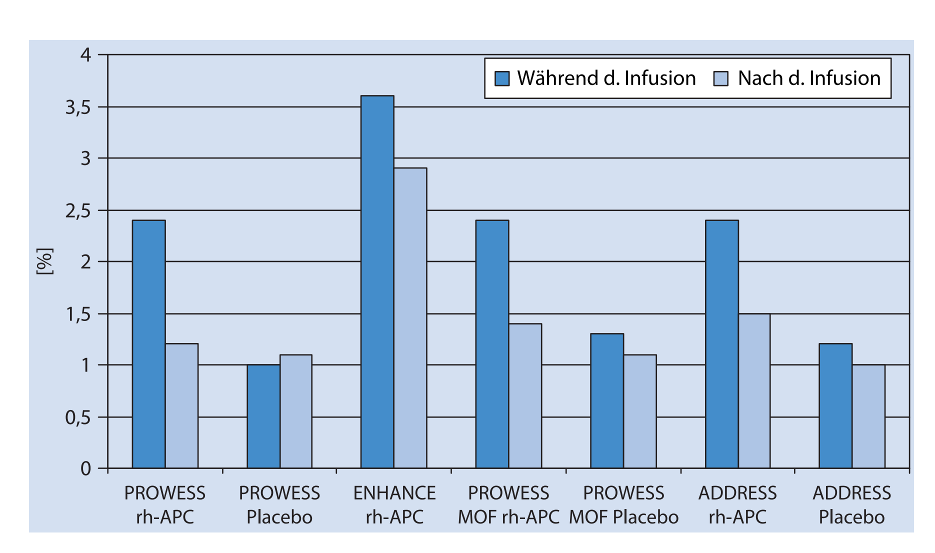



**Abb. 54.2.** Inzidenz schwerer Blutungen während und nach der rh-APC-Infusion innerhalb der gesamten 28-tägigen Studienperiode der Studien PROWESS, ADDRESS und ENHANCE. *MOF* multiples Organversagen

**! Rh-APC soll 2 h vor dem Beginn von Maßnahmen abgesetzt werden, die mit einem Blutungsrisiko einhergehen. Die Therapie mit rh-APC kann 12 h nach Operationen oder größeren interventionellen Eingriffen wieder begonnen werden, sofern eine ausreichende Hämostase vorliegt. Nach kleineren Eingriffen ohne Komplikationen kann bei Vorliegen einer normalen Hämostase direkt die Therapie mit rh-APC wieder aufgenommen werden.**

Bei Patienten mit schwerer Sepsis wurde in seltenen (<1%) Fällen nach einmaligem Behandlungszyklus mit rh-APC die Bildung von Antikörpern gegen aktiviertes Protein C festgestellt. Weiterhin besteht die Möglichkeit von allergischen Reaktionen auf Bestandteile des Arzneimittels.

## 54.2 Antithrombin

Antithrombin ist ein Serinproteaseinhibitor und gilt als wichtiger physiologische Inhibitor und Modulator des Gerinnungssystems. Antithrombin inhibiert insbesonders Faktor Xa und Thrombin.



### 54.2.1 Wirkmechanismus

Der Hauptsyntheseort von Antithrombin ist die Leber. Die Halbwertszeit beträgt bei Gesunden etwa 2,5 Tage. Im Rahmen einer Verbrauchskoagulopathie kann die Halbwertszeit jedoch auf einige Stunden verkürzt sein (Mammen 1998).

Antithrombin hat antithrombotische und antiinflammatorische Wirkungen. Die Hemmwirkung von Antithrombin beruht auf der Bildung einer kovalenten Bindung zwischen Antithrombin und dem aktiven Zentrum von Serinproteasen. Diese so enstehenden Antithrombin-Enzym-Komplexe werden durch das Retikuloendotheliale System abgebaut. Antithrombin inhibiert insbesonders Faktor Xa und Thrombin, aber auch andere Serinproteasen, z. B. die aktivierten Formen von Faktor IX, XI und XII. Dabei bildet sich z. B. mit Thrombin ein irreversibler Thrombin-Antithrombin-Komplex. Die Reaktion zwischen beiden Proteinen läuft auf molekularer Ebene im Verhältnis 1:1 ab. Im Komplex verliert Thrombin seine Enzymwirkung und Antithrombin seine Inhibitorwirkung.

Die Hemmwirkung von Antithrombin ist sehr breit und kann durch Heparin stark beschleunigt werden. Daher spielt das Antithrombin eine zentrale Rolle in der Regulation der Hämostase. In hoher Dosierung kann Antithrombin auch den Tissue-Factor-Faktor-VIIa-Komplex hemmen (Jesty et al. 1996).

### 54.2.2 Indikationen

Ein schwerer Antithrombinmangel kann eine Indikation zur Antithrombinsubstitution darstellen. Bei Patienten mit einem angeborenen Antithrombinmangel ist eine Anthrombinsubstitution indiziert, wenn die Gabe eines Antikoagulans kontraindiziert ist oder die Wirkung von Heparin verstärkt werden soll.

Ein erworbener Antithrombinmangel wird bei schweren Lebersynthesestörungen, beim nephrotischen Syndrom und durch einen gesteigerten Verbrauch, z. B. bei Sepsis, beobachtet. Durch Studien abgesicherte Antithrombinspiegel, bei denen eine Substitution erfolgen sollte, existieren nicht. Üblich ist die Gabe erst bei Werten deutlich unter 50%.

In einer Phase-III-Studie mit 2.314 Patienten mit schwerer Sepsis oder septischem Schock konnte durch die Therapie mit Antithrombin die 28-Tage-Letalität im Vergleich zu Placebo nicht signifikant gesenkt werden (Warren et al. 2001). Das Blutungsrisiko war unter Antithrombin erhöht. Insbesondere war die Anzahl der Blutungskomplikationen bei den Patienten, die gleichzeitig Heparin und Antithrombin erhielten, signifikant erhöht (23,8% versus 13,5% in der Kontrollgruppe). Möglicherweise wird die fehlende Wirksamkeit von Antithrombin durch eine Begleitbehandlung mit Heparin verursacht (Warren et al. 2001), denn ein Subkollektiv von Patienten, die keine niedrig dosierte Heparintherapie erhielten, schien von einer Therapie mit Antithrombin zu profitieren (Hoffmann et al. 2006). Diese Wirksamkeitsanalyse stammt aus einer Post-hoc-Analyse und nicht aus randomisiert kontrollierten Studien. Daher kann dieses Ergebnis als hypothesengenerierend bewertet werden, ersetzt aber nicht eine prospektive Überprüfung dieser Annahme.

**! Daher wird eine Behandlung mit Antithrombin bei schwerer Sepsis oder septischen Schock nicht empfohlen (Dellinger et al. 2004).**

### 54.2.3 Dosierung und Applikation

Die normale Antithrombinaktivität beträgt bei Erwachsenen 80–120%, bei Neugeborenen ist etwa die Hälfte dieser Aktivität nachweisbar. Die Dosierung und Dauer der Antithrombinapplikation richtet sich nach dem Ausmaß des Antithrombinmangels und des klinischen Zustands des Patienten. Die Dosierung sollte nach klinischer Wirkung und gemessener Antithrombinaktivität individuell angepasst werden. Eine internationale Einheit (IE) Antithrombin entspricht dem Antithrombingehalt in 1 ml normalem, gepooltem humanem Zitratplasma. 1 IE Antithrombin/kgKG erhöht die Antithrombinaktivität um ca. 1,5%.

## 54.2.4 Nebenwirkungen

Da Antithrombin eine gerinnungshemmende Wirkung aufweist, kann das Blutungsrisko bei Patienten erhöht sein. Insbesondere unter einer Kombination mit Heparin oder anderen gerinnungshemmenden Medikamenten, wie z. B. das rh-APC, kann das Blutungsrisiko deutlich erhöht sein (Blauhut et al. 1985).

Allergische oder anaphylaktoide Reaktionen wie Schüttelfrost, Exantheme, Tachykardie oder Hautrötung und allgemeine Reaktionen (z. B. Fieber, Übelkeit, Erbrechen, Kopfschmerzen, Brustschmerzen) werden in seltenen Fällen beobachtet. Eine Übertragung von Infektionserregern ist bei der Anwendung von aus menschlichem Blut oder Plasma hergestellten Arzneimitteln wie den Antithrombinkonzentraten nicht völlig ausgeschlossen. Insbesondere einige Viren (z. B. Parvovirus B 19) lassen sich schwer entfernen oder inaktivieren.

### Literatur

Abraham E, Laterre PF, Garg R et al. (2005) Drotrecogin alfa (activated) for adults with severe sepsis and a low risk of death. N Engl J Med 353: 1332–1341

Angus DC, Laterre PF, Helterbrand J, Ely EW, Ball DE, Garg R, Weissfeld LA, Bernard GR (2004) The effect of drotrecogin alfa (activated) on long-term survival after severe sepsis. Crit Care Med 32: 2199–2206

Bernard GR, Macias WL, Joyce DE, Williams MD, Bailey J, Vincent JL (2003) Safety assessment of drotrecogin alfa (activated) in the treatment of adult patients with severe sepsis. Crit Care 7: 155–163

Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF et al. (2001) Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. N Engl J Med 344: 699–709

Blauhut B, Kramar H, Vinazzer H et al. (1985) Substitution of antithrombin III in shock and DIC: a randomized study. Thromb Res 39: 81–89

Cheng T, Liu D, Griffin JH, Fernandez JA, Castellino F, Rosen ED, Fukudome K, Zlokovic BV (2003) Activated protein C blocks p53-mediated apoptosis in ischemic human brain endothelium and is neuroprotective. Nat Med 9: 338–342

Deans KJ, Minneci PC, Eichacker PQ, Natanson C (2004) The efficacy of drotrecogin alfa depends on severity of illness. Crit Care Med 32: 2347

De Backer D, Verdant C, Chierego M, Koch M, Gullo A, Vincent JL (2006) Effects of drotrecogin alfa activated on microcirculatory alterations in patients with severe sepsis. Crit Care Med 34: 1918–1924

Dellinger RP, Carlet JM, Masur H et al. (2004) Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. Crit Care Med 32: 858–873

Eichacker PQ, Danner RL, Suffredini AF, Cui X, Natanson C (2005) Reassessing recombinant human activated protein C for sepsis: time for a new randomized controlled trial. Crit Care Med 33: 2426–2428

EMEA/CHMP (2005) Press Release EMEA/138444/2005. www.emea.europa.eu/pdfs/human/press/pr/12130705en.pdf

EMEA/CHMP (2006) Procedural steps taken and scientific information after the authorisation. Changes made after 01/10/2004. Xigris-H-C-396-S-13 x Scientific Discussion. www.emea.europa.eu/humandocs/Humans/EPAR/xigris/Xigris.htm

Esmon CT (2001a) Protein C anticoagulant pathway and its role in controlling microvascular thrombosis and inflammation. Crit Care Med 29: 51–52

Esmon CT (2001b) The normal role of Activated Protein C in maintaining homeostasis and its relevance to critical illness. Crit Care 5: S7–12

Esmon CT (2001c) Role of coagulation inhibitors in inflammation. Thromb Haemost 86: 51–56

Feistritzer C, Riewald M (2005) Endothelial barrier protection by activated protein C through PAR1-dependent sphingosine 1-phosphate receptor-1 crossactivation. Blood 105: 3178–3184

Hoffmann JN, Wiedermann CJ, Juers M et al.; KyberSept investigators (2006) Benefit/risk profile of high-dose antithrombin in patients with severe sepsis treated with and without concomitant heparin. Thromb Haemost 95: 850–856

Hoffmann JN, Vollmar B, Laschke MW et al. (2002) Adverse effect of heparin on antithrombin action during endotoxemia: microhemodynamic and cellular mechanisms. Thromb Haemost 88: 242–252

Hoffmann JN, Vollmar B, Inthorn D, Schildberg FW, Menger MD (2000) Antithrombin reduces leukocyte adhesion during chronic endotoxemia by modulation of the cyclooxygenase pathway. Am J Physiol Cell Physiol 279: C98–107

Jesty J, Lorenz A, Rodriguez J, Wun TC (1996) Initiation of the tissue factor pathway of coagulation in the presence of heparin: control by antithrombin III and tissue factor pathway inhibitor. Blood 87: 2301–2307

Joyce DE, Gelbert L, Ciaccia A, DeHoff B, Grinnell BW (2001) Gene expression profile of antithrombotic protein c defines new mechanisms modulating inflammation and apoptosis. J Biol Chem 276: 11199–11203

Kessler CM, Tang Z, Jacobs HM, Szymanski LM (1997) The suprapharmacologic dosing of antithrombin concentrate for Staphylococcus aureus-induced disseminated intravascular coagulation in guinea pigs: substantial reduction in mortality and morbidity. Blood 89: 4393–401

Lehmann C, Meissner K, Knöck A, Diedrich S, Pavlovic D, Gründling M, Usichenko T, Wendt M, Birnbaum J (2006) Activated protein C improves intestinal microcirculation in experimental endotoxaemia in the rat. Crit Care 10: R157

Mammen EF (1998) Antithrombin: its physiological importance and role in DIC. Semin Thromb Hemost 24: 19–25

Martinez MA, Pena JM, Fernandez A, Jimenez M, Juarez S, Madero R, Vazquez JJ (1999) Time course and prognostic significance of hemostatic changes in sepsis: relation to tumor necrosis factor-alpha. Crit Care Med 27: 1303–1308

Oelschlager C, Romisch J, Staubitz A (2002) Antithrombin III inhibits nuclear factor kappaB activation in human monocytes and vascular endothelial cells. Blood 99: 4015–20

Parrillo JE (2005) Severe sepsis and therapy with activated protein C. N Engl J Med 353: 1398–1400

Perez-Casal M, Downey C, Fukudome K, Marx G, Toh CH (2005) Activated protein C induces the release of microparticle-associated endothelial protein C receptor. Blood 105: 1515–1522

Riewald M, Ruf W (2003) Science review: role of coagulation protease cascades in sepsis. Crit Care 7: 123–129

Shibata M, Kumar SR, Amar A, Fernandez JA, Hofman F, Griffin JH, Zlokovic BV (2001) Anti-inflammatory, antithrombotic, and neuroprotective effects of activated protein C in a murine model of focal ischemic stroke. Circulation 103: 1799–1805

Vincent JL, Bernard GR, Beale R et al. (2005) Drotrecogin alfa (activated) treatment in severe sepsis from the global open-label trial ENHANCE: further evidence for survival and safety and implications for early treatment. Crit Care Med 33: 2266–2277

Warren BL, Eid A, Singer P et al. (2001) Caring for the critically ill patient. High-dose antithrombin III in severe sepsis: a randomized controlled trial. JAMA 286: 1869–1878

Wiedermann CJ, Kaneider NC (2005) A meta-analysis of controlled trials of recombinant human activated protein C therapy in patients with sepsis. BMC Emerg Med 5: 7

# 55 Schlangengifte

*A. M. Perchuc, M. Wilmer*

## Einleitung

Schlangengifte sind eine reichhaltige Quelle biologisch aktiver Proteine, potenziell einsetzbar in Diagnostik und Therapie. Die Wirkstoffe können verschiedenen Proteinfamilien zugeordnet werden (Serinproteasen, Metalloproteasen, Typ-C-Lektine, Disintegrine, Phospholipasen). Schlangengifte können die Wirkung der Gerinnungsfaktoren imitieren oder hemmen. Viele Wirkstoffe haben bereits Einzug in Diagnostik und Therapie von Gerinnungsstörungen gehalten. Gemäß ihrer Wirksamkeit werden die Schlangengiftkomponenten in Gruppen klassifiziert: gerinnungsaktivierende, antikoagulatorisch wirkende, die Thrombozytenfunktion modulierende, fibrinolytisch und hämorrhagisch wirkende Faktoren.

### 55.1.1 Substanzklassen und Präparate

Thrombinartige Enzyme (SVTLE = »snake venom thrombin-like enzymes«) sind die in medizinischen Anwendungen am häufigsten genutzten Schlangengiftkomponenten. Batroxobin, ein Enzym zur Defibrinogenierung, wird gewonnen aus dem Gift der Brasilianischen Steppenlanzenotter (*Bothrops moojeni*) und beispielsweise unter dem Handelsnamen Defibrase® vertrieben. Ein Wirkstoffgemisch aus Batroxobin und einer Komponente mit thromboplastinartigen Eigenschaften, gewonnen aus dem Gift der Gemeinen Lanzenotter (*Bothrops atrox*), wird zur Blutungsstillung verwendet und als Hämokoagulase z.B. unter dem Handelsnamen Reptilase® geführt. Die Präparate werden hauptsächlich in den asiatischen Märkten therapeutisch verwendet: Defibrase® und Reptilase® in Japan und China, Reptilase® darüber hinaus in Korea und Indien.

Aus dem Gift der Malayischen Mokassinschlange (*Agkistrodon rhodostoma*) wird ein weiteres SVTLE isoliert. Das den Wirkstoff Ancrod enthaltende Präparat wurde in der Vergangenheit unter dem Handelsnamen Arvin® und neuerdings unter Viprinex® vertrieben. Viprinex® wird in einer Reihe außereuropäischer Länder verwendet. In den USA befindet sich das Präparat in Phase-III-Studien.

Rekombinant hergestellt wird der Wirkstoff Alfimeprase. Es handelt sich um eine verkürzte Form der Fibrolase, eine direkt fibrinolytisch und fibrinogenolytisch wirkende Zink-Metalloprotease, ursprünglich gewonnen aus dem Gift des Nordamerikanischen Kupferkopfs (*Agkistrodon contortrix contortrix*). Phase-I- und Phase-II-Studien bei Patienten mit arteriellen und venösen Thrombosen bewiesen die Wirksamkeit und eine gute Verträglichkeit (Deitcher et al. 2006). Derzeit befindet sich das Präparat in Phase-III-Studien.

Basierend auf der Struktur der thrombozyteninhibierenden Disintegrine wurden synthetische Derivate mit einer sehr viel höheren Affinität zum thrombozytären Glykoprotein-IIb-IIIa-Rezeptor entwickelt. In die Klinik eingeführt wurden Eptifibatide (Integrilin®) und Tirofiban (Aggrastat®). Eptifibatide, ein zyklisches Heptapeptid mit einer pharmakologisch aktiven Gruppe, leitet sich von der Struktur des Barbourin, einem Glykoprotein-IIb-IIIa-Inhibitor aus der Dunklen Zwergklapperschlange (*Sisturus miliarus barbouri*) ab (Scarborough et al. 1991, 1993; Phillips u. Scarborough 1997). Tirofiban imitiert die adhäsive Aminosäuresequenz RGD und ist abgeleitet von der Schlangengiftkomponente Echistatin, isoliert aus dem Gift der Sandrasselotter (*Echis carinatus*; Hantgan et al. 2004). Beide Wirkstoffe wurden für die Therapie des akuten Koronarsyndroms und für die Prävention von Thromboembolien bei perkutanen Koronarinterventionen zugelassen (Koh et al. 2006).

### 55.1.2 Wirkmechanismus

Im Unterschied zu Thrombin, das sowohl Fibrinopeptid A wie auch B (FPA, FPB) vom Fibrinogen abspaltet und gleichzeitig FXIII aktiviert, spalten die meisten SVTLE lediglich FPA ab (nur sehr wenige auch FPB). Dadurch entstehen Fibrinfäden, aber kein dreidimensionales Fibrinnetzwerk. Nach Applikation von Batroxobin wird die Spaltung der Bindung Aα16Arg-17Gly im Fibrinogen katalysiert und führt zur Abspaltung von FPA und zur Entstehung von monomerem Fibrin I (des-A-Fibrin). Darüberhinaus wird die Freisetzung von t-PA aus dem Endothel stimuliert. Fibrin I wird durch das entstehende Plasmin zu Fibrinspaltprodukten (FSP) abgebaut. Über diesen Mechanismus erfolgt eine dosisabhängige Senkung der Fibrinogenkonzentration im Plasma und Reduktion der Viskosität des Blutes. Im Gegensatz zu thrombingebildetem Fibrin II (des-A-des-B-Fibrin), das in verdünnter Essigsäure nicht löslich ist, geht batroxobingebildetes Fibrin I nach Zusatz von Essigsäure sofort in Lösung und geliert bei Neutralisierung der Säure wieder. Dieses Verhalten von Fibrin I wird zur Herstellung eines chirurgischen Gewebeklebers und Hämostyptikums (Vivostat®) unter Verwendung von Eigenblut, genutzt.

**! Im Unterschied zu Thrombin aktivieren die SVTLE weder andere Gerinnungsfaktoren, noch aktivieren sie Thrombozyten. Sie werden nicht durch Thrombininhibitoren wie Antithrombin und Hirudin gehemmt. Obwohl sie in ihrer Funktion dem Thrombin ähnlich sind, unterscheiden sie sich grundlegend von diesem in Struktur und Funktion (Stocker 1990, 1999; Kini 2006).**

Die Wirkung von Ancrod ist weitgehend analog zu der von Batroxobin mit dem Unterschied, dass Plasminogen nicht durch Ancrod aktiviert und somit bereits gebildetes Fibrin nicht abgebaut wird. Daher kann es auch postoperativ angewendet werden.

Hämokoagulase führt bei lokaler topischer Applikation bei Hautverletzungen dosisabhängig zur Fibrinbildung und nachfolgend zur Blutungsstillung. Die Injektion einer relativ geringen Dosis führt über einen längeren Zeitraum zur Bildung von Fibrin I und einer erhöhten Gerinnbarkeit des Blutes (Stocker 1990).

Abgeleitet von der Fibrolase wirkt Alfimeprase direkt fibrinogenolytisch auf die Fibrinogen-Aα-Kette. Im Gegensatz zu den plasminogenartigen, thrombolytischen Substanzen sind Fibrolase und Alfimeprase nicht abhängig vom endogenen Fibrinolysesystem. Alfimeprase wird durch die Bindung an α2-Makroglobulin und Ausbildung nicht redissoziierbarer makromolekularer Komplexe neutralisiert. In vivo wird im Vergleich zu Plasmin oder Urokinase ein Gerinnsel mit einer bis zu 6-fach höheren Geschwindigkeit aufgelöst (Toombs 2001; Swenson et al. 2004; Deitcher et al. 2006).

### 55.1.3 Indikationen

Eine Behandlung mit Batroxobin (Defibrase®) oder Ancrod (Viprinex®) kann durch die Senkung der Fibrinogen- und Antiplasminkonzentration zu einer Thromboseprophylaxe, zu einer Verstärkung der physiologischen und einer medikamentös unterstützten Fibrinolyse sowie zu einer Verbesserung der Mikrozirkulation eingesetzt werden. Randomisierte Studien haben die Wirksamkeit von Ancrod in der Therapie des akuten ischämischen Hirninfarkts gezeigt (Hennerici et al. 2006). Weitere Indikationen für Defibrase® und Viprinex®, als auch für Reptilase® sind in der Übersicht zusammengefasst.

Basierend auf der direkten thrombolytischen Aktivität von Alfimeprase und der nur geringen hämorrhagischen Aktivität und Neutralisierung durch Bindung an $\alpha_2$-Makroglobulin besteht ein gutes Sicherheitsprofil im Vergleich zu anderen therapeutisch verwendeten Plasminogenaktivatoren. Alfimeprase wurde als Therapeutikum für periphere arterielle Verschlüsse und Katheterthrombosierungen entwickelt. Potenzielle weitere Anwendungsbereiche sind arterielle und venöse Gefässverschlüsse (Deitcher et al. 2006).

**Indikationen**

- **Defibrase®:**
  - tiefe Beinvenenthrombose
  - Lungenembolien
  - Zentralvenenthrombosen
  - Arteriosclerosis obliterans
  - Thrombangiitis obliterans
  - diabetische Mikroangiopathien
  - Erfrierungen
  - Raynaud-Syndrom
  - pAVK (periphere arterielle Verschlusskrankheit)
  - Sklerodermie
  - Thromboseprophylaxe nach fibrinolytischer Therapie
  - Thromboseprophylaxe bei Hochrisikopatienten
- **Viprinex®:**
  - Prävention und Behandlung tiefer Beinvenenthrombosen
  - Zentralvenenthrombosen
  - thrombotisch verursachter Priapismus
  - thrombotisch verursachte pulmonale Hypertonie
  - Embolien bei künstlichen Herzklappen
  - Rezidive nach Thrombolysetherapie
  - gefäßchirurgische Eingriffe
  - Durchblutungsstörungen (u. a. bei Thrombophlebitis,Thrombangiitis obliterans, diabetischen Mikroangiophathien und Morbus Raynaud)
- **Reptilase®:**
  - prä- und postoperative Blutungsneigung
  - Tonsillektomie
  - Ophthalmologie
  - Odontologie
  - Epistaxis
  - spontane oder traumatisch bedingte Blutungen
  - hämorrhagische Diathesen
  - für lokale Anwendungen auf der Wundfläche, z. B. bei nachblutenden Zahnextraktionen

### 55.1.4 Dosierung und Applikation

Präparate zur Defibrinogenierung werden basierend auf der Fibrinogenkonzentration dosiert. Die einzustellende Zielkonzentration für Defibrase® wird mit 70±30 mg/dl und für Viprinex® mit 20–70 mg/dl angegeben.

Bei Reptilase® wird eine Dosierung von 1–2 KU (Klobusitzky-Unit), bei Kindern 0,3–1 KU empfohlen.

Die maximal zu verabreichende Dosierung von Alfimeprase richtet sich nach der $\alpha_2$-Makroglobulin-Konzentration im Plasma und seiner Bindungskapazität für Alfimeprase. Dosierungen bis zu 0,6 mg/kgKG wurden in den

Phase-I- und Phase-II-Studien verwendet. Die Applikation erfolgte i.a. und/oder direkt in das vorliegende Gerinnsel (Deitcher et al. 2006).

### 55.1.5 Nebenwirkungen

Batroxobin (in Form von Defibrase® und Reptilase®) wird allgemein gut vertragen. Beschriebene Nebenwirkungen für Defibrase® sind allergische Reaktionen, Kopfschmerzen sowie Schläfrigkeit. In seltenen Fällen kann es zu Fieberreaktionen, Ekchymosen, Hämatomen und Blutungen aus der Punktionsstelle kommen. Nach 4–6 Behandlungswochen kann sich eine immunologische Resistenz gegen Defibrase entwickeln, die einen Anstieg des Plasmafibrinogenspiegels trotz fortgeführter Therapie auslöst. Die Therapie ist ggf. mit Ancrod weiterzuführen (Bell 1997).

Die spezifischere Wirkung von Viprinex® verringert das Blutungsrisiko, es wurden jedoch Blutungen auch unter Ancrod beschrieben. Bei s.c.-Gabe können ggf. auftretende lokale oder systemische allergische Reaktionen mit Antihistaminika behandelt werden.

Die Gefahr von systemischen Blutungen wird durch die inhibitorischen Eigenschaften des $\alpha_2$-Makroglobulin auf Alfimeprase reduziert. Während der klinischen Prüfung wurde lediglich über 2 Fälle mit Nebenwirkungen berichtet, zum einen trat eine milde Hautrötung auf, in dem zweiten Fall traten leichte Kopfschmerzen auf (Deitcher et al. 2006).

### 55.1.6 Labordiagnostik

Schlangengiftwirkstoffe kommen neben der therapeutischen Anwendung in der In-vitro-Diagnostik zur Anwendung (Marsh 2001; Marsh u. Williams 2005; Schoni 2005). SVTLE werden für die Analyse des Fibrinogens (z. B. Dysfibrinogenämien) und dessen Polymerisation (Fibrinpolymerisationshemmung durch FSP) eingesetzt (z. B. Reptilasezeit). Diagnostisch macht man sich zu Nutze, dass die Reptilasezeit im Gegensatz zur Thrombinzeit nicht durch Heparin- oder direkte Thrombininhibitoren gehemmt wird.

Prothrombinaktivatoren (PTA) werden eingesetzt zur Durchführung der Ecarin-Clotting Time (ECT), zum funktionellen Nachweis einer Faktor-V-Leiden-Mutation (FVL) und zur Untersuchung des Prothrombins (quantitative und qualitative Mängel). Bekannte Wirkstoffe sind Ecarin (Sandrasselotter, *Echis carinatus*), Noscarin (Tigerotter, *Notechis scutatus*), Oscutarin (Taipan, *Oxyuranus scutellatus*) und Textarin (Gewöhnliche Braunschlange, *Pseudonaja textilis*).

Aktivatoren von FX und FV (RVV-X, RVV-V [RVV = »Russell's viper venom«]), isoliert aus dem Gift der Kettenviper *Daboia russelli*) und Protein C (Protac®, isoliert aus dem Gift des Nordamerikanischen Kupferkopfs *Agkistrodon contortrix contortrix*) werden in Tests zur Untersuchung des Protein-C-Systems (v. a. Protac®), der Lupusantikoagulanzien (v. a. RVV-V und RVV-X, aber auch Textarin) sowie im Antikoagulanzienmonitoring (PiCT®: Kombination von FXa und RVV-V) eingesetzt.

Botrocetin®, ein Wirkstoff isoliert aus dem Gift der Jararaca-Lanzenotter (*Bothrops jararaca*), aggregiert Von-Willebrand-Faktor-(vWF-)abhängig die Thrombozyten und wird eingesetzt zur Untersuchung von vWF-assoziierten Defekten, wie z. B. dem Bernard-Soulier Syndrom. Die Verwendung von aus Schlangengiften isolierten Disintegrinen zur Untersuchung von Thrombozytenglykoproteinen (z. B. GP-IIb-IIIa, GP-Ib) wurde beschrieben, ebenso die Verwendung von C-Typ-Lektinen zur Modulierung der Thrombozytenfunktion. Bekannte C-Typ-Lektine sind Echicetin (Sandrasselotter, *Echis carinatus*) und Convulxin (Südamerikanische Klapperschlange, *Crotalus durissus terrificus*).

### Literatur


Arzneimittel-Kompendium der Schweiz (1991) Basel: Documed AB

Bell WRJ (1997) Defibrinogenating enzymes. Drugs 54 (Suppl 3): 18–31

Deitcher SR, Funk WD et al. (2006) Alfimeprase: a novel recombinant direct-acting fibrinolytic. Expert Opin Biol Ther 6(12): 1361–9

Hantgan RR, Stahle MC et al. (2004) The disintegrin echistatin stabilizes integrin alphaIIbbeta3's open conformation and promotes its oligomerization. J Mol Biol 342(5): 1625–36

Hennerici MG, Kay R et al. (2006) Intravenous ancrod for acute ischaemic stroke in the European Stroke Treatment with Ancrod Trial: a randomised controlled trial. Lancet 368(9550): 1871–8

Kini RM (2006) Anticoagulant proteins from snake venoms: structure, function and mechanism. Biochem J. 397(3): 377–87

Koh DC, Armugam A et al. (2006) Snake venom components and their applications in biomedicine. Cell Mol Life Sci 63(24): 3030–41

Lu Q, Clemetson JM et al. (2005) Snake venoms and hemostasis. J Thromb Haemost 3(8): 1791–9

Marsh N (2001) Diagnostic uses of snake venom. Haemostasis 31(3-6): 211–7

Marsh N, Williams V (2005) Practical applications of snake venom toxins in haemostasis. Toxicon 45(8): 1171–81

Phillips DR, Scarborough RM (1997) Clinical pharmacology of eptifibatide. Am J Cardiol 80(4A): 11B–20B

Scarborough RM, Naughton MA et al. (1993) Design of potent and specific integrin antagonists. Peptide antagonists with high specificity for glycoprotein IIb-IIIa. J Biol Chem 268(2): 1066–73

Scarborough RM, Rose JW et al. (1991) Barbourin. A GPIIb-IIIa-specific integrin antagonist from the venom of Sistrurus m. barbouri. J Biol Chem 266(15): 9359–62

Schoni R (2005) The use of snake venom-derived compounds for new functional diagnostic test kits in the field of haemostasis. Pathophysiol Haemost Thromb 34(4-5): 234–40

Stocker K (1990) Medical Use of Snake Venom Proteins. Boca Raton: CRC Press

Stocker K (1999) Anwendung von Schlangengiftproteinen in der Medizin. Schweiz Med Wochenschr 129: 205–16

Swenson S, Toombs CF et al. (2004) Alpha-fibrinogenases. Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Disord 4(4): 417–35

Toombs CF (2001) Alfimeprase: pharmacology of a novel fibrinolytic metalloproteinase for thrombolysis. Haemostasis 31(3-6): 141–7

# Labordiagnostik

# 56 Leistungsfähigkeit von Labormethoden

*K. Dörner*

## Einleitung

Bei der Frage nach der Richtigkeit von Laborbestimmungen stehen immer mehr die Fragen der Präanalytik, also aller Schritte von der Indikationsstellung über die Probengewinnung, den Probentransport und die Analysenvorbereitung, im Vordergrund. Gerade bei der Gerinnungsdiagnostik finden sich eine Reihe kritischer Punkte, wie das Blut-Zitrat-Verhältnis bei extremen Hämatokritwerten, die Blutentnahme selbst, die Instabilität von Probe und Reagens und die reagenzienabhängige Bewertung der Messergebnisse. Auch wenn die Richtigkeit der Laborbestimmungen für klinische Belange in aller Regel ausreicht, muss der Arzt doch die Fallstricke der Gerinnungsdiagnostik kennen.

## 56.1 Grundsätze zielgerichteter Diagnostik

Die meisten labordiagnostischen Fragestellungen sind binär strukturiert. Die Frage des Arztes lautet: Hat der Patient einen erhöhten Wert oder nicht bzw. ist er krank oder nicht? Es liegt in der Natur des Menschens, dass diese Simplifizierung nicht immer zulässig ist (Abb. 56.1).

Bereits die Grenze zwischen gesund und krank ist unscharf. Keineswegs alle Kranke zeigen Symptome und pathologische Laborbefunde, wie es umgekehrt Gesunde gibt, die Krankheitssymptome und/oder pathologische Laborbefunde aufweisen. Letzteres ist schon in der Definition des Begriffs »Normalwerte« begründet, nach der 5% aller »Normalen« pathologische Werte aufweisen.

Bei der Gerinnungsanalytik gilt diese Betrachtung in verstärktem Maße, denn hier tritt die Bedeutung des positiv- und negativ-prädiktiven Werts gegenüber der Ja/Nein-Entscheidung besonders hervor (Beispiel: Ausschluss einer Embolie mit der D-Dimer-Bestimmung). Um keine »falschen« Ergebnisse im Sinne der Fragestellung zu erhalten, muss eine Reihe von insbesondere präanalytischen Teilschritten der Laboruntersuchung betrachtet werden.



**Abb. 56.1.** Gesundheitzustand des Menschen. I Gesunde mit klinischen Symptomen; II Gesunde mit pathologischen Laborbefunden; III Kranke mit klinischen Symptomen und pathologischen Laborbefunden

Nach übereinstimmender Meinung mehrerer Autoren liegt die Ursache falscher Laborergebnisse überwiegend im präanalytischen Bereich (46–68,2%). Postanalytik und eigentliche Laboranalytik tragen nur noch 18,5–47% bzw. 7–13% zu den Fehlern bei (Plebani 2006). Es ist daher von großer Bedeutung, alle präanalytischen Schritte, von der Indikationsstellung über die Planung und Durchführung der Blutuntersuchung, dem Probentransport bis hin zur Probenabarbeitung, sorgfältig zu überdenken.

Bei der Indikation zu Laboruntersuchungen sind grundsätzlich Verlaufskontrollen von gezielten diagnostischen Leistungsanforderungen auf der Grundlage des klinischen Bilds zu unterscheiden. Eine rationale Anforderungsstrategie setzt medizinische, insbesondere pathophysiologische Kenntnisse voraus, sowohl bei Verlaufskontrollen als auch bei gezielter Diagnostik. Die klinische Relevanz einer Untersuchung muss in einem vertretbaren Verhältnis zu den Kosten stehen.

**! Indiskriminiertes Anforderungsverhalten führt zu irreführendem Zahlenballast mit notwendigerweise partiell falschen Ergebnissen und zu Wiederholungsanalysen. Dies ist ökonomisch verantwortungslos.**

Insbesondere die engmaschigen tradionellen Verlaufskontrollen ohne Berücksichtigung biologischer Halbwertszeiten bergen ein erhebliches Einsparpotenzial. Das Anforderungsverhalten bedarf der ständigen (ober-)ärztlichen Kontrolle. Die Überwachung des nachfolgend dargestellten präanalytischen Ablaufs gehört ebenfalls in den Verantwortungsbereich des anfordernden Arztes.

## 56.2 Präanalytik

### 56.2.1 Entnahmegefäße und Zitratlösungen

Zitrat ist das Standardantikoagulans für Gerinnungsuntersuchungen. Allerdings sind mindestens 2 Standardkonzentrationen im Einsatz: In Deutschland wird überwiegend 0,105 mmol/l (3,2%) Natriumzitrat verwendet, in den USA 0,129 mmol/l (3,8%). Letzteres ist mit Zitronensäure auf pH 5,5 gepuffert. Mit beiden Zitratlösungen erhält man beim gleichen Patienten statistisch signifikant unterschiedliche Ergebnisse (Töpfer et al. 2001).

Blutentnahmeröhrchen mit Zitrat sind meist hellblau codiert, in Deutschland jedoch auch grün (alter britischer Standard 4851 [82]), wobei es keine internationale Übereinkunft über die Farbcodierung gibt (siehe EN 14820). Glasröhrchen ohne Silikonisierung sind als Primärgefäße bei Gerinnungsuntersuchungen nicht geeignet, weil durch sie eine Gerinnungsaktivierung erfolgt; besser sind Blutentnahmesysteme aus Plastik. Der sogenannte »head-space« (der Luftraum über der Probe) sollte klein sein, um eine Gerinnungsaktivierung zu vermeiden. Deshalb hat auch das Mischen von Blut und Antikoagulans nach der Blutentnahme vorsichtig zu erfolgen.

Bei Hämatokritwerten der Probanden von 25–60% beträgt das empfohlene Blut-Zitrat-Verhältnis 9:1. Bei davon abweichenden Hämatokritwerten muss das Blut-Zitrat-Verhältnis gemäß ◘ Tab. 56.1 gewählt werden.

**◘ Tab. 56.1.** Blut-Zitrat-Verhältnis bei pathologischem Hämatokrit nach Komp u. Sparrow (1970)

| Hämatokrit [%] | Gesamtvolumen | Blutvolumen | Zitratvolumen |
|---|---|---|---|
| 15 | 1 | 0,864 | 0,136 |
| 20 | 1 | 0,871 | 0,129 |
| **25–60** | **1** | **0,900** | **0,100** |
| 65 | 1 | 0,939 | 0,061 |
| 70 | 1 | 0,947 | 0,053 |
| 75 | 1 | 0,956 | 0,044 |
| 80 | 1 | 0,964 | 0,036 |

Die hier aufgeführten Werte sind nach der Formel von Komp u. Sparrow (1970) errechnet $S = \frac{V\,(100 - Hk)}{(640 - Hk)}$

S Volumen der Zitratlösung [ml]; V Gesamtvolumen Blut + Zitratlösung [ml]; Hk Hämatokrit [%]

**Blutentnahme bei extremen Hämatokritwerten**

In der Routinediagnostik erfolgt keine Anpassung des Zitrat-Blut-Verhältnisses an den Hk-Wert; der Kliniker muss aber wissen, dass die Ergebnisse falsch-hoch bzw. falsch-niedrig sind. Korrekt wäre es, das Zitratvolumen bei vorgegebenem Gesamtvolumen (z. B. 2,9 ml) gemäß ◘ Tab. 56.1 anzupassen (Zahlenwert Spalte 4 × Endvolumen [ml]). Beispiel:

Hk 20%: 0,129×2,9=0,4 ml Zitrat

Bei vorgegebener Zitratmenge (z. B. 0,29 ml) wäre es korrekt, den Blutanteil gemäß ◘ Tab. 56.1 anzupassen (Zahlenwert Spalte 3 × 0,29 [ml] / Zahlenwert Spalte 4). Beispiel:

Hk 70%: 0,947×0,29/0,053=5,2 ml Blut

Die Begründung für das zu ändernde Blut-Zitrat-Verhältnis ist die relative Hypo- bzw. Hyperplasmaämie bei pathologischen Hämatokritwerten, das dadurch gestörte Kalzium-Zitrat-Verhältnis in der antikoagulierten Vollblutprobe und die bei der Rekalzifizierung während der Gerinnungsanalyse ggf. gestörte Initialisierung des Gerinnungsvorgangs.

### 56.2.2 Entnahmebedingungen

Das empfohlene Untersuchungsmaterial für Gerinnungsuntersuchungen ist Venenblut. Im Kapillarblut muss mit einer Aktivierung der Gerinnungskaskade durch Gewebsthrombokinase gerechnet werden. Kapillarblut kann nur für wenige Tests nach speziellen Arbeitsvorschriften eingesetzt werden: Hepato Quick®, APTT (aktivierte partielle Thromboplastinzeit), Fibrinogen und AT (Antithrombin; Töpfer et al. 2000). Katheterblut ist für Gerinnungsuntersuchungen nicht vorteihaft. Vor der Gerinnungsprobe sollten 10 ml Blut für andere Zwecke abgenommen oder verworfen werden. Bei der Entnahme von Venenblut mit großlumiger Kanüle sind mehrere Kautelen zu beachten:

- Gerinnungsfaktoren sind Makromoleküle, deren Konzentration im Blut beim stehenden Probanden höher ist als beim liegenden. Im Stehen verlässt Plasmawasser das Gefäßsystem, wodurch sich die relative Konzentration von Zellen und Makromolekülen erhöht. Sequenzielle Blutentnahmen sollen daher möglichst bei gleicher Körperlage der Probanden erfolgen.
- Auch bei anhaltender Venenstauung steigt aus den oben genannten Gründen die Konzentration der Gerinnungsfaktoren an. Zudem erfolgt eine Aktivierung der

Fibrinolyse. Es wird empfohlen, maximal 1 min mit einem Druck von 10 mmHg unter (!) dem diastolischen Druck zu stauen.
- Erfolgen mehrere Blutentnahmen hintereinander, soll das Gerinnungsröhrchen als Zweites oder Drittes gefüllt werden, keinesfalls als Erstes (Gerinnungsaktivierung). Wenn nur eine einzige Blutentnahme (Gerinnungsuntersuchung) geplant ist, wird empfohlen, vor dem Füllen des Gerinnungsröhrchens 5 ml Blut in ein Leerröhrchen abzunehmen.
- Der häufigste präanalytische Fehler bei Gerinnungsuntersuchungen ist die Unterfüllung des Gerinnungsröhrchens. Im klinischen Alltag können Abweichungen bis zu ±10% vom Nennvolumen toleriert werden; alles, was darüber hinausgeht, soll vom Laborpersonal zurückgewiesen werden.
- Für die Kontrolle der fibrinolytischen Therapie sind die Entnahmevorschriften des Labors zu beachten, z. B. Zusatz von 150 kIU/ml Aprotinin.

### 56.2.3 Probentransport und Probenlagerung

Zitratblut für Gerinnungsuntersuchungen sollte generell rasch bei Raumtemperatur (!) ins Labor gebracht werden. Nur für wenige Spezialuntersuchungen (Thrombozyteninhaltsstoffe) ist eine Kühlung mit Eiswasser nötig. Es ist festzuhalten, dass die Faktoren VII, XI und XII kälteaktivierbar sind, während Faktor VIII thermolabil ist. Die Probenstabilität von Zitratvollblut ist in Tab. 56.2 dargestellt.

Die Stabilität von Gerinnungsfaktoren in Vollblut wird wegen der Pufferwirkung der Erythrozyten höher erachtet als in Plasma. Muss eine Probe längere Zeit aufbewahrt werden, so kann sie als plättchenarmes Plasma bei –20° C eingefroren werden. Heparinhaltige Patientenproben sind nur bis zu 4 h bei Raumtemperatur haltbar (Heins et al. 1999).

### 56.2.4 Zentrifugation

Die Spezifikation von Zitratplasma wird neben dem Zitratgehalt, dem pH-Wert und der Lagerzeit auch von ihrem Thrombozytengehalt bestimmt. Man unterscheidet 3 Plasmaarten: plättchenreich, plättchenarm und plättchenfrei (Tab. 56.3). Im Routinelabor wird meist bei 3.000×g zentrifugiert, um falsch-hohe LDH-Werte durch Thrombozytenkontamination zu vermeiden. Man beachte, dass das plättchenarme Plasma immer noch bis 10.000 Thrombozyten/µl enthält (Witt 1987). Höhere Thrombozytenzahlen bewirken eine falsch-kurze Gerinnungszeit.

56

**Tab. 56.2.** Lagerstabilität von Zitratvollblut und Zitratplasma für Gerinnungsuntersuchungen

| | Raumtemperatur | | Kühlschrank (4–8°C) |
|---|---|---|---|
| Bestimmung | Zitratvollblut | Zitratplasma | Zitratplasma über Erythrozyten |
| Thrombinzeit | 1–4 h | 1–4 h | 1 h–2 Tage |
| Thromboplastin (Quick) | 4 h bis 1 Tag | 4 h bis 1 Tag | 8 h–1 Tag |
| APTT | 8–12 h | 2–8 h | 2–8 h |
| Fibrinogen (Clauss) | | 1–7 Tage | 1–7 Tage |
| Fibrinogen (immunologisch) | | 7 Tage | 7 Tage |
| D-Dimere | 8–24 h | 8 h | 4 Tage |
| AT (koagulometrisch) | 8 h | 2 Tage | 2 Wochen |
| AT (immunologisch) | 2 Tage | | 8 Tage |
| Protein S | | 4 h | 4 h |
| Protein C | 1 Tag | 7 Tage | 7 Tage |
| Antiphospholipidantikörper | | 1 Tag | 2–3 Tage |
| Einzelfaktoren VII, XI,XII | | 6 h | Instabil |
| Einzelfaktoren II, V, VIII, IX, X | | 3–6 h | 4 h bis 2 Tage (V, VIII) |

*APTT* aktivierte partielle Thromboplastinzeit; *AT* Antithrombin

**Tab. 56.3.** Spezifikationen von Zitratplasma

| Plasma | Relative Zentrifugalbeschleunigung [g] | Zentrifugationsdauer [min] |
|---|---|---|
| Plättchenreich | 150–200 | 5 |
| Plättchenarm | 2.000–2.500 | 10–15 |
| Plättchenfrei | >3.000 | 15–30 |

## 56.3 Analytik

### 56.3.1 Messprinzipien der Hämostaseologie

In der Gerinnungsanalytik werden funktionelle Tests (für Aktivitätsmessungen), immunologische Testverfahren (für Konzentrationsmessungen, z. B. D-Dimere) und molekularbiologische Verfahren (für Mutations- und Expressionsanalysen) eingesetzt. Die Detektionsverfahren sind entsprechend unterschiedlich und umfassen die visuelle Blutstillung (Clotbildung, Sistieren einer Blutung, automatisiert, aber auch Verschluss einer Messkapillare), die Fibrindetektion (in fibrinbildenden Systemen), die enzymatische Aktivitätsmessung von Gerinnungsfaktoren mittels Photometrie (mit chromogenen Substraten), die immunologische Konzentrationsbestimmung (radiale Immundiffusion, Elektroimmundiffusion), die Enzymimmunoassays mit ihren verschiedenen Techniken bis hin zu den molekulargenetischen Verfahren.

Zur klassischen plasmatischen Gerinnungsdiagnostik werden heute nahezu ausschließlich hochmechanisierte optische Verfahren eingesetzt. Dabei wird die Trübung, die durch die langsam einsetzende Fibrinbildung (die Indikatorreaktion) im rekalzifizierten Gerinnungsansatz entsteht, turbidimetrisch gemessen. Diese optischen Verfahren können bei sehr trüben und/oder stark ikterischen Plasmaproben versagen. Wenn trotz eines Wechsels der Messwellenlänge keine brauchbaren Extinktionswerte zu erreichen sind, muss auf die älteren mechanisch-koagulometrischen Verfahren zurückgegriffen werden. Bei diesen wird die Fibrinbildung über die elektrische Leitfähigkeit eines gebildeten Fibrinfadens (nach Schnittger und Gross) oder die Viskositätsänderungen des Ansatzes (Kugelkoagulometrie) detektiert.

Zur Bestimmung von Inhibitoren (z. B. AT) werden häufig chromogene Substrate verwendet, die im Messverlauf ein photometrisches Signal liefern. Chromogene Substrate sind synthetische Oligopeptide mit einer endständigen stark photometrisch absorbierenden Gruppe (z. B. p-Nitranilin). Diese wird durch Proteasen (hier im Beispiel die Serinprotease Thrombin) abgespalten und die Reaktionslösung nimmt aktivitätsproportional eine intensive Färbung an.

**Tab. 56.4.** Typische Haltbarkeiten von gebrauchsfertigen Gerinnungsreagenzien in gekühlten Positionen (15°C) von Gerinnungsautomaten (nach Angaben der Firmen Dade-Behring, IL und Roche)

| Reagens | Haltbarkeit |
|---|---|
| Thromboplastin (Quick) | 48 h bis 5 Tage |
| APTT | (24 h bis) 48 h (bis 5 Tage) |
| Fibrinogen | 48 h (bis 5 Tage) |
| Thrombinzeit | (8 h bis) 48 h (bis 5 Tage) |
| AT, Substrat und Reagens | 48 h bis 7 Tage |
| D-Dimere | 48 h bis 15 Tage |
| Protein C (chromogen), Substrat | 6 Wochen bis 3 Monate im Kühlschrank |
| Protein C (chromogen), Aktivator | 2 Wochen bis 3 Monate im Kühlschrank |
| Protein S | 1–4 h |
| Einzelfaktoren | 4–24 h |

*APTT* aktivierte partielle Thromboplastinzeit; *AT* Antithrombin

### 56.3.2 In-vitro-Haltbarkeit von Reagenzien

Reagenzien für die Gerinnungsdiagnostik werden in der Regel lyophilisiert geliefert. Die Rekonstituierung muss bei Raumtemperatur (!) erfolgen. In einigen Fällen wird noch eine Aktivierung bei 37°C empfohlen, bevor das Reagens in die gekühlten Reagenspositionen der Automaten gesetzt werden kann. Wird ein Gerinnungsreagens im Kühlschrank aufbewahrt, so wird dringend empfohlen, es vor der Messung auf Zimmertemperatur anzuwärmen. Im Gerät sind die Reagenzien herstellerspezifisch unterschiedlich lange haltbar (Tab. 56.4).

### 56.3.3 Beurteilung von Analysemethoden

Laborergebnisse sollen valide sein. Darunter versteht man nach Büttner (1989a), dass das Testergebnis mit dem übereinstimmt, was zu messen beabsichtigt war. Die Kriterien zur Beurteilung der Validität sind vielseitig und basieren zunächst (aber keinesfalls ausschließlich!) auf einer analytischen Beurteilung nach den beiden klassischen Kriterien Präzision (die Wiederholbarkeit einer Messung in der Serie

oder in verschiedenen Serien) und Richtigkeit (d. h. wie nahe der Messwert dem »wahren« Wert kommt). Auf diesen beiden Kriterien beruhen die gesetzlich vorgeschriebene Qualitätskontrolle und maßgeblich auch die Kompetenzbescheinigung im Rahmen einer Akkreditierung.

Zur analytischen Bewertung einer Methode gehört ganz sicher auch die Praktikabilität. Unter diesem Begriff fasst man ökonomische Aspekte (Fixkosten [Personal, Investitionen, Wartungskosten] und Grenzkosten [Verbrauchsmaterialien und Reagenzien]) zusammen. Auch die »Handhabbarkeit« einer Methode (Zeitbedarf, Personalbindung, arbeitsmedizinische Aspekte) ist ein wichtiger Aspekt.

An der Grenze zur medizinischen Bewertung sind die Begriffe Spezifität und Sensitivität und der damit verknüpfte negativ- bzw. positiv-prädiktive Wert angesiedelt. Sie beschreiben die Zahl der richtig-positiven und der richtig-negativen Werte und die Ratio von richtig-negativen zur Summe der negativen (negativ-prädiktiver Wert) bzw. die richtig-positiven zur Summe der positiven Ergebnisse (positiv-prädiktiver Wert). Diese Kriterien sind letztlich für den beurteilenden Arzt entscheidend. Er interessiert sich nicht für die hohe Präzision eines Messergebnisses, sondern für die Frage, ob ein Patient der Kategorie »gesund« oder »krank« zuzuordnen ist (Abb. 56.1).

### 56.3.4 Qualitätssicherung von Gerinnungsuntersuchungen

Bei der statistischen Qualitätskontrolle unterscheidet man zufällige und systematische Fehler (vgl. oben: Präzision und Richtigkeit). Sie werden durch die laborinterne Qualitätskontrolle überprüft und durch die externe Qualitätskontrolle (Ringversuche) ergänzt. Ihre Durchführung regelt die »Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung labormedizinischer Untersuchungen« (RiliBÄK; Bundesärztekammer 2008), insbesondere deren spezieller Teil B. Während früher Präzisions- und Richtigkeitskontrollen getrennt geführt wurden, verwendet man heute ausschließlich Richtigkeitskontrollen, benützt diese aber zusätzlich auch als Präzisionskontrollen.

In der RiliBÄK ist u. a. festgelegt, dass arbeitstäglich mindestens 1-mal, innerhalb von 24 h (und längstens nach 16 h) mindestens 2-mal Kontrollprobeneinzelmessungen durchzuführen sind. Die Kontrollproben müssen Zielwerte im ärztlich relevanten Bereich haben und in 2 unterschiedlichen Konzentrationsbereichen im Wechsel eingesetzt werden. Werden Untersuchungen weniger als 15-mal in 3 Monaten durchgeführt, sind jeweils 2 Kontrollen mitzuführen. Für die Bewertung sind die in Tab. 56.5 dargestellten Fehlergrenzen festgesetzt.

Neu seit 2008 ist, dass grundsätzlich alle quantitativen Messverfahren der statistischen Qualitätskontrolle unterliegen. In der Initialphase (d. h. bei neu eingesetzten Kontrollproben) darf die Abweichung vom Zielwert nicht größer sein, als in Tab. 56.5 aufgeführt. Nach einem Monat, sofern im ersten Monat nicht mindestens 15 Messwerte erhalten wurden ggf. nach 2 oder 3 Monaten, muss die mittlere quadratische Messabweichung der Einzelwerte vom Zielwert errechnet werden. Dieser Zahlenwert darf ebenfalls die in Tab. 56.5 beschriebenen Grenzen nicht überschreiten.

**Tab. 56.5.** Maximal zulässige Abweichungen nach der Richtlinie der Bundesärztekammer 2008 (Spalten 3 und 4)

| | Zulässige relative Abweichung des Einzelwerts bzw. des relativen quadratischen Mittelwerts [%] | Gültigkeitsbereich |
|---|---|---|
| APTT (aktivierte partielle Thromboplastinzeit) | 10,5 | 20–120 s |
| Thromboplastinzeit (Quick) | 11,5 | 10–120% |

Für Analyte, die nicht aufgeführt sind, legt das Labor selbst »aufgrund seiner Erfahrung und Zielsetzung Ober- und Untergrenzen fest« (RiliBÄK 2008). Bei Überschreitung der Grenzen für die relative mittlere quadratische Messabweichung ist das Untersuchungsverfahren für Messungen von Patientenprobenmaterial zu sperren. Die Teilnahme an Ringversuchen der in Tab. 56.5 aufgeführten Analyten muss derzeit 4-mal jährlich erfolgen.

## 56.4 Postanalytik

### 56.4.1 Labordiagnostische Bewertung

Es wäre ein großes Missverständnis, einen Zahlenwert aus dem Labor als Laborbefund fehlzuinterpretieren und unmittelbare klinische Konsequenzen daraus zu ziehen.

**! Selbst wenn das Laborpersonal eine analytische Beurteilung bezüglich erfüllter präanalytischer Kriterien und Qualitätsnormen und geeigneter Referenzwerte geliefert hat, obliegt es dem Arzt, am Patienten erneut (!) eine Plausibilitätskontrolle vorzunehmen (bestehend aus Extremwertkontrolle, Longitudinalkontrolle, Transversalkontrolle und Konstellationskontrolle).**

Nur der behandelnde Arzt kann mögliche Störfaktoren durch die Medikation des Patienten, andere Laborergebnisse (z. B. zum Infektstatus, zum Leberstatus) und ggf. die

Befunde bildgebender Verfahren mit dem Laborwert zusammenfügen und richtig interpretieren. Büttner (1989b) nennt folgerichtig diesen letzten Schritt des Zusammenführens aller Informationen zu einem Laborwert vor dessen klinischer Anwendung am Patienten *Interpretation*. Die juristische Verantwortung für die richtige Bewertung eines Laborergebnisses liegt immer beim behandelnden Arzt.

### 56.4.2 Referenzwerte

ISO 15189 verlangt die periodische Überprüfung der biologischen Referenzbereiche (der früher übliche Begriff Normalbereiche sollte aufgegeben werden) im medizinischen Laboratorium. Die Ermittlung laboreigener Referenzintervalle ist jedoch mühsam und kostenintensiv. Es stehen grundsätzlich 2 Wege zur Verfügung: der induktive und der deduktive Weg. Beim induktiven Verfahren wird ein Kollektiv von Gesunden nach Alter und Geschlecht definiert (z. B. Blutspender oder Labormitarbeiter), bei denen mit genau festgelegter Präanalytik, einer qualitätskontrollierten Methode und nachvollziehbarer statistischer Berechnung die Referenzbereiche x ± 2 s oder besser $P_{2,5}$–$P_{97,5}$ ermittelt werden.

Ein Beispiel für ein fehlerhaftes Vorgehen sind wahrscheinlich die Referenzwerte für Neugeborene, die wegen fehlender Hämatokritkorrektur regelmäßig zu niedrige »Referenzwerte« haben. Referenzwerte gelten auch nur für die im Entnahmesystem eingesetzte Zitratkonzentration. Bei alten Menschen und bei Kindern ist diese Vorgehensweise wegen der notwendigen Blutentnahmen technisch und ethisch schwierig. Außerdem ist festzustellen, dass Referenzwerte zur Beurteilung des Gesundheitszustands von Patienten und nicht von Labormitarbeitern oder Blutspendern dienen.

Beim deduktiven Verfahren zur Referenzwertermittlung definiert man durch Ausschlusskriterien wie Diagnose, Medikation und Komorbiditäten ein Kollektiv von Nicht-Kranken. Hier geht man meist retrospektiv vor, indem man aus einem vorhandenen Datenmaterial die vermutlich Kranken samt ihrer Laborwerte aussortiert. Auch hier gelten die oben genannten Basiskriterien zur Präanalytik, Analytik und statistischen Berechnung. Eine Unterform des deduktiven Verfahrens ist die Ermittlung ohne Ausschlussdiagnosen, allein auf mathematisch-statistischer Grundlage (z. B. Bhattacharya-Plot). Hier macht man sich zu Nutze, dass im Labor die überwiegende Zahl der Werte nicht pathologisch (Cave: Antikoagulanzientherapie!) und annähernd normal verteilt ist. Durch Glättung der Werte und durch Rekonstruktion einer Normalverteilung werden die Referenzintervalle ermittelt. Dieses Verfahren ist kostengünstig und wird der Fragestellung (»Krank?« und »Wie krank?«) bzw. dem zu beurteilenden Patientenkollektiv am ehesten gerecht.

## Literatur

Bundesärztekammer (2008) Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung labormedizinischer Untersuchungen. Deutsches Ärzteblatt 105(7): A341–A355

Büttner J (1989a) Die Validität klinisch-chemischer Befunde. In: Greiling H, Gressner AM (Hrsg) Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 2. Aufl. Stuttgart: Schattauer; 71–78

Büttner J (1989b) Die Interpretation klinisch-chemischer Befunde. In: Greiling H, Gressner AM (Hrsg) Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 2. Aufl. Stuttgart: Schattauer; 82

Heins M, Grunewald R, Amend M, Heil W (1999) Präanalytik in der Gerinnungsdiagnostik – Welchen Einfluss haben Lagerungsdauer und Lagerungstemperatur auf Meßgrößen des Gerinnungssystems? Hämostaseologie 19: 63–67

Komp DM, Sparrow AW (1970) Quantitation of secondary fibrinolysis in cyanotic heart disease. J Pediat 77: 679–682

Plebani M (2006) Errors in clinical laboratories or errors in laboratory medicine? Clin Chem Lab Med 44: 750–759

Töpfer G, Lutze G, Sauer K, Friedel G, Hornig F, Kühnert T, Funke U, Zawta B (2001) Einfluss der Citratkonzentration im Blutentnahmeröhrchen auf hämostaseologische Meßgrößen. J Lab Med 25: 162–68

Töpfer G, Funke U, Schulze M, Lutze G, Ziemer S, Siegert G, Frick U (2000) Präanalytische Probleme bei Gerinnungsuntersuchungen im venösen Citratblut, Katheterblut und Kapillarblut. J Lab Med 24: 514–520

Witt I (1987) Hämostase- und Fibrinolysesystem. In: Greiling H, Gressner AM (Hrsg) Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie. Stuttgart: Schattauer, S 751

# 57 Point of Care Testing (POCT)

*A. Calatzis*

## Einleitung

In den letzten Jahren kommen bei der Versorgung operativer und intensivmedizinischer Patienten vermehrt Point-of-Care-Analyseverfahren (Point-of-Care-Testing, POCT) zum Einsatz. Die hämostaseologischen Methoden umfassen einfach zu handhabende Tests zur Beurteilung der plasmatischen Gerinnung, Thrombozytenfunktionstests sowie komplexere, viskoelastische Analyseverfahren.

Nutzen und Risiken der POC-Verfahren werden entscheidend von der Dringlichkeit der Analyse, der Reaktionszeit des Labors, den verfügbaren personellen und logistischen Ressourcen sowie von dem zu erwartenden Spektrum der Gerinnungsveränderungen geprägt. Sinnvoll ist die POC-Diagnostik – trotz in der Regel höherer Kosten – sofern Sie eine bessere Prozessqualität des Hämostasemanagements zur Folge hat (z. B. Zeitvorteil, zielgerichtetes Hämostasemanagement statt einer konsekutiven Applikation verschiedener therapeutischer Optionen).

## 57.1 Definition

Als Point-of-Care-Testing (POCT) bezeichnet man Verfahren, die patientennah außerhalb der klassischen Laborumgebung (auf Station bzw. im Operationssaal) durchgeführt werden. Synonym werden die Begriffe »near patient testing« (patientennahe Analytik), »bedside testing« und »alternative site testing« (bezeichnet die Durchführung der Analytik an anderen Orten als im Labor) verwendet.

Die Besonderheiten der POC-Analyse sind (Calatzis et al. 2003):

- keine Probenvorbereitung (unbehandeltes Vollblut),
- keine/kaum Reagenzienvorbereitung,
- relativ einfache Handhabung.

Ein wesentlicher Unterschied zu den klassischen Labormethoden ist die Durchführung der POC-Analysen durch Personal ohne umfassende Ausbildung und Erfahrung in Labortätigkeiten. Um dieser Tatsache Rechnung zu tragen, wird eine geringe (bis keine) Probenvorbereitung und somit meist die Verwendung der nicht zentrifugierten Blutproben erforderlich. Ebenfalls minimiert wird der notwendige manuelle Umgang mit Reagenzien.

Ein großer Vorteil der POC-Analytik ist die schnelle Verfügbarkeit von Parametern zur Steuerung der Hämostasetherapie. Gemäß den Empfehlungen der Arbeitsgemeinschaft medizinische Laboratoriumsdiagnostik (Briedigkeit et al. 1999) beträgt eine akzeptable Reaktionszeit für die TPZ (Thromboplastinzeit), die APTT (aktivierte partielle Thromboplastinzeit) und für ein kleines Blutbild in Notfallsituationen weniger als 30 min, ein Wert, der in der Praxis meist deutlich überschritten wird. Hämostaseologische POC-Verfahren werden in der Klinik v. a. im perioperativen Bereich, in der Intensivmedizin sowie in der Hämodialysesteuerung eingesetzt.

## 57.2 Einteilung hämostaseologischer POC-Verfahren

Inhaltlich lassen sich die verfügbaren Methoden folgenden Gruppen zuordnen:

- Methoden zur Erfassung der plasmatischen Gerinnung:
  - »activated clotting time« (ACT)
  - Heparinmanagementsystem
  - POC-Systeme für TPZ und APTT
- Methoden zur Erfassung der Thrombozytenfunktion:
  - PFA-100®
  - Verifynow®
  - Vollblutaggregation (z. B. Multiplate®)
- Methoden zur Erfassung der plasmatischen Gerinnung, der Thrombozytenfunktion und der Fibrinolyse (viskoelastische Methoden):
  - Thrombelastographie
  - Rotationsthrombelastographie (ROTEM®)
  - Sonoclot®

Hinsichtlich der Durchführung kann man »echte« POC-Methoden von »POC-tauglichen« Methoden unterscheiden:

- »echte« POC-Methoden:
  - »activated clotting time« (ACT), Heparinmanagementsystem (Protamintitration),
  - POC-Systeme für für TPZ und APTT
  - Verifynow®
- POC-taugliche Methoden (mit zunehmendem Komplexitätsgrad):
  - PFA-100®
  - ROTEM®, Multiplate®
  - Haemoscope® TEG
  - Chronolog® Vollblutaggregation

Echte POC-Methoden sind von der Einfachheit der Durchführung her mit einer Blutgasanalyse vergleichbar. Dagegen erfordern POC-taugliche Methoden mehr Aufwand und Geschick vom Untersucher und dementsprechend mehr Training und Motivation. Um eine 24-stündige Verfügbarkeit zu gewährleisten, ist ein größerer logistischer und personeller Aufwand notwendig als bei echten POC-Methoden.

## 57.3 Vorteile und Probleme der POC-Diagnostik

Seitens der Labormediziner wird – oft berechtigt – die geringe Standardisierung und Qualitätskontrolle von patientennah durchgeführten Analysen kritisiert (Briedigkeit et al. 1999). Dem können die zum Teil sehr langen Response-Zeiten der Analysen im Labor entgegengehalten werden, die eine zielgerichtete Hämotherapie bei Blutungskomplikationen erschweren. Die Analysen im Labor und im POC-Bereich haben jeweils Vor- und Nachteile (◘ Tab. 57.1). Entscheidend für die Wahl des Verfahrens sind meist die Dringlichkeit der Analyse, die potenzielle therapeutische Konsequenz, die Responsezeit des Notfalllabors sowie die Erfahrung der behandelnden Ärzte mit dem jeweiligen POC-Verfahren.

Viele Laborverfahren sind vergleichbar schnell wie die entsprechenden POC-Verfahren. Zeitverzögerungen entstehen durch den Probentransport, die Erfassung der Probe im Labor, die Zentrifugation sowie die Ergebnisfreigabe und -übermittlung. Auch für die anfordernde Stelle entsteht durch das Ausfüllen der Anforderung, die Veranlassung des Probentransports sowie die Entgegennahme der Analyseergebnisse ein merklicher Aufwand. Beim Vergleich der Response-Zeit und der Kosten der POC-Analyse gegenüber dem Labor ist es deshalb entscheidend, den gesamten Prozess zu betrachten und nicht nur die Analyse selber. Auch die Kosten und der Zeitaufwand für Probentransport, Befundübermittlung und evtl. Rückfragen sind in die Beurteilung mit einzubeziehen.

Die Risiken beim Einsatz von POC-Methoden unterscheiden sich nicht prinzipiell von dem allgemeinen Risiko beim unkritischen Umgang mit Laborwerten. In der Regel ist jedoch die Wahrscheinlichkeit eines falschen Ergebnisses bei der POC-Analyse größer als bei einer Analyse im Labor (Yuoh et al. 2001). Die Standardisierung und Qualitätskontrolle im Labor ist wesentlich weiter entwickelt als im POC-Bereich. Daher sind die Plausibilitätskontrolle und die Einbeziehung des klinischen Bilds bei therapeutischen Entscheidungen umso wichtiger.

**! Fehlerquellen sind eine falsche Abnahme, eine falsche Testdurchführung, nicht bemerkte Defekte der verwendeten Geräte sowie abgelaufene oder falsch gelagerte Reagenzien.**

**◘ Tab. 57.1.** Gegenüberstellung der Vorteile von Labor- und POC-Analyse

| Laboranalyse | Point-of-Care-Analyse |
|---|---|
| – Qualifiziertes Personal<br>– hohe Standardisierbarkeit<br>– großes Parameterspektrum | – Unmittelbare therapeutische Konsequenz<br>– Klinik, Präanalytik und Analytik in einer Hand<br>– zeitnahe Analytik |

## 57.4 Einführung von Point-of-Care-Methoden

Es ist empfehlenswert, mindestens einen Mitarbeiter mit der Einführung der Methode, Schulung der anderen Mitarbeiter, der Qualitätskontrolle und der Kommunikation mit dem Anbieter zu betrauen. Eine Alternative dazu ist die Betreuung der POC-Analytik durch das Labor. In diesem Fall kann das Know-how des Labors in Analytik und Qualitätssicherung genutzt werden.

Point-of-care-Methoden sollten stufenweise eingeführt werden. Die Eignung des jeweiligen Systems für den Einsatz in der speziellen klinischen Umgebung sollte evaluiert, Reproduzierbarkeit und Plausibilität zumindest orientierend überprüft sowie die Verfahren zur Qualitätskontrolle etabliert werden. Häufig werden zunächst einzelne Kollegen klinische Erfahrung mit dem Verfahren sammeln, bevor es zu einem breiten Einsatz der Methode kommt.

Einige POC-Verfahren bieten die Möglichkeit der Anbindung an das Klinik- oder Labor-EDV-System. In der Praxis hat es sich bewährt, Werte, die von verschiedenen Geräten ermittelt wurden, in den Befundmitteilungen getrennt auszugeben.

## 57.5 Qualitätskontrolle

Die Qualitätskontrolle von POC-Methoden wird dadurch erschwert, dass das Probenmaterial dieser Verfahren (Vollblut) nur über eine kurze Zeitspanne stabil ist. Die Lyophilisation der Probe führt größtenteils zur Lyse der Blutzellen. Andere Verfahren zur Stabilisierung von Blut oder blutähnlichen Flüssigkeiten (wie bei Kontrollen für die Hämatologie angewendet) scheitern an der mangelnden Stabilität der Gerinnungsproteine und Thrombozyten in wässriger Lösung.

Verfügbare Kontrollmaterialien bestehen deshalb meist aus lyophilisiertem Plasma. Diese Kontrollen sind bei

Geräten zur Erfassung der plasmatischen Gerinnung und den viskoelastischen Verfahren verwendbar (ROTEM®). Für einige Systeme werden artifizielle Kontrollflüssigkeiten verwendet (Verifynow®, Multiplate®), für andere wiederum (z. B. PFA-100®) ist überhaupt kein Kontrollmaterial verfügbar; hier bleibt nur eine Plausibilitätskontrolle durch Messungen von Patienten und Normalpersonen.

Ähnliche Probleme gibt es bei der Kalibration der POC-Methoden. Für die POCT ist die regelmäßige Durchführung einer Kalibration der Parameter nicht durchführbar. Seitens der Hersteller wird deshalb eine stabile Kalibration der Chargen angestrebt. Für die jeweilige Charge werden dabei Umrechnungsfaktoren festgelegt, mit denen auf allen Instrumenten die ermittelte Messgröße (z. B. Gerinnungszeit) in das Messergebnis (z. B. INR) umgerechnet wird.

Die »Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung quantitativer laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen« (Bunderärztekammer 2008) legen verbindliche Anforderungen für die Qualitätskontrolle von Laborparametern fest. Diese sind für die einzelnen Verfahren entsprechend umzusetzen.

Es ist wichtig, regelmäßig interne Kontrollen durchzuführen (in der Regel mit den Kontrollmaterialien des Herstellers) und die Ergebnisse zu dokumentieren. Soweit durchführbar, wird auch die Teilnahme an Ringversuchen empfohlen. Bei POC-Methoden, zu denen analoge Verfahren im Labor verfügbar sind (APTT, TPZ) kann die externe Kontrolle indirekt durch die vergleichende Untersuchung auf dem POC-System und im Labor (das der externen Qualitätskontrolle unterliegt) erfolgen.



## Literatur


Briedigkeit L, Muller-Plathe O, Schlebusch H, Ziems J (1999) Recommendations of the German Working Group on medical laboratory testing (AML) on the introduction and quality assurance of procedures for point-of-care testing (POCT) in hospitals. Clin Chem Lab Med 37: 919–925

Boldt J, Walz G, Triem J, Suttner S, Kumle B (1998) Point-of-care (POC) measurement of coagulation after cardiac surgery. Intensive Care Med 24: 1187–93

Bundesärztekammer (2008) Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen. Dt Ärzteblatt 105(7): A341–A355

Calatzis A, Heesen M, Spannagl M (2003) Patientennahe Sofortdiagnostik von Hämostaseveränderungen in der Anästhesie und Intensivmedizin. Anaesthesist 52: 229–237

Despotis GJ, Goodnough LT (2000) Management approaches to platelet-related microvascular bleeding in cardiothoracic surgery. Ann Thorac Surg 70(2 Suppl): S20–32

Ferring M, Reber G, Moerloose P de,Merlani P, Diby M, Ricou B (2001) Point of care and central laboratory determinations of the aPTT are not interchangeable in surgical intensive care patients. Can J Anaesth 48: 1155–1160

Hartert H (1948) Blutgerinnungstudien mit der Thrombelastographie, einem neuen Untersuchungsverfahren. Klin Wochenschrift 26: 577–583

Hattersley PG (1966) Activated coagulation time of whole blood. JAMA 196: 436–40

Hett DA, Walker D, Pilkington SN, Smith DC (1995) Sonoclot analysis. Br J Anaesth 75: 771–6

Mammen EF, Comp PC, Gosselin R, Greenberg C, Hoots WK, Kessler CM, Larkin EC, Liles D, Nugent DJ (1998) PFA-100 system: a new method for assessment of platelet dysfunction. Semin Thromb Hemost 24: 195–202

Steinhubl SR, Talley JD, Braden GA et al. (2001) Point-of-care measured platelet inhibition correlates with a reduced risk of an adverse cardiac event after percutaneous coronary intervention: results of the GOLD (AU-Assessing Ultegra) multicenter study. Circulation 103: 2572–8

Tripodi A, Chantarangkul V, Mannucci P (2001) Near-patient testing devices to monitor oral anticoagulant therapy. Br J Haematol 113: 847–52

Yuoh C,Tarek Elghetany M,Petersen JR, Mohammad A,Okorodudu AO (2001) Accuracy and precision of point-of-care testing for glucose and prothrombin time at the critical care units. Clin Chim Acta 307: 119–123

# 58 Blutungszeit, Thrombelastographie und PFA-100

*A. Calatzis*



## Einleitung

Die Blutungszeit ist der einzige In-vivo-Test der Blutgerinnung und zeichnet die primäre Hämostase nach einer standardisierten Hautläsion auf. Das PFA-100-System untersucht die primäre Hämostase in vitro unter Verwendung hoher Scherkräfte und erfasst somit gleichzeitig die Funktion der Thrombozyten und des Von-Willebrand-Faktors (vWF). Die Thrombelastographie zeichnet die Gerinnselbildung kontinuierlich auf, von der Bildung erster Fibrinfäden, bis zur potenziellen Auflösung des Gerinnsels.

## 58.1 Blutungszeit

### Indikation

Indikation für die Blutungszeit ist die orientierende Beurteilung der primären Hämostase.

### Testprinzip

Bei der Blutungszeit werden mehr oder weniger standardisierte Läsionen gesetzt und die Zeit bis zum Sistieren der Blutung aufgezeichnet (Rodgers u. Levin 1990).

**Blutungszeit nach Ivy.** Setzen eines Schnitts von definierter Länge und Tiefe an der Innenseite des Unterarms (auf Narben, Blutgefäße etc. achten). Am besten Durchführung mittels einer automatischen Lanzette (z. B. Surgicutt®). Standardisierung des Gewebedrucks mittels einer Blutdruckmanschette am Oberarm (40 mmHg). Blut wird mit Zellstoff oder Papier alle 30 s entfernt.

**Cave**

Das sich bildende Gerinnsel auf der Verletzung darf nicht abgehoben werden.

**Blutungszeit nach Duke.** Setzen eines Lanzettenstichs (ca. 3 mm tief) in den Ohrläppchenrand. Blut wird mit Zellstoff oder Papier alle 15 s entfernt.

**Cave**

Keine Berührung des Wundrandes!

**Subaquale Blutungszeit nach Marx.** Setzen eines Lanzettenstichs in die Fingerbeere oder das Ohrläppchen. Sofortiges Eintauchen in ein wassergefülltes Kolbenglas (37° C).

### Messgröße

Die Blutungszeit wird in Minuten angegeben.

### Befundmitteilung

Neben der Ausgabe der Blutungszeit sollte die verwendete Methodik sowie eine qualitative Bewertung (normwertig – grenzwertig – moderat verlängert – deutlich verlängert) vorgenommen werden. Für die interne Beurteilung sollte der Untersucher dokumentiert werden.

### Referenzbereich

Aufgrund der hohen Variabilität der Ergebnisse von Zentrum zu Zentrum (Poller et al. 1984) ist die Orientierung an Referenzwerten aus der Literatur nicht zu empfehlen. Für die Blutungszeit nach Marx werden Referenzbereiche von <2 min angegeben, nach Ivy <10 min und nach Duke 3–5 min.

### Bewertung

Studien zur klinischen Prädiktivität der Blutungszeit in Bezug auf klinische Endpunkte haben in der Regel keine gute Aussagekraft der Blutungszeit ergeben (Rodgers u. Levin 1990). Wenn die Blutungszeit eingesetzt wird, sollte – auch aufgrund der großen Variabilität zwischen Untersuchern – v. a. eine qualitative Bewertung erfolgen. Umgebungsbedingungen (Temperatur) und die Durchführung sollten so standardisiert wie möglich sein.

Eine Durchführung der Blutungszeit durch eine hiermit unerfahrene Person (z. B. PJ-Student) ist diagnostisch wertlos. Ebenso ist die Durchführung beim potenziell zentralisierten Patienten (kritisch Kranke) sinnlos. In Situationen, in denen durch Punktion, Operation oder eine intensivmedizinische Behandlung Traumen gesetzt werden, kann die klinische Beobachtung des Patienten eine zuverlässige Beurteilung der Gerinnungssituation ermöglichen. Hier sollte die Durchführung der Blutungszeit unterbleiben.

Aufgrund der schlechten Reproduzierbarkeit und Standardisierung (Lehman et al. 2001) sollte die Messung der Blutungszeiten nach Marx und Duke nicht mehr durchgeführt werden. Ihren Stellenwert hat die Blutungszeitbestimmung nach Ivy in der Beurteilung des Schweregrads einer hämorrhagischen Diathese.

## 58.2 Thrombelastographie

### Indikation

Die Thrombelastographie (TEG) bzw. Thrombelastometrie wird v. a. zur Analyse komplexer Hämostasestörungen im

perioperativen Bereich eingesetzt (Luddington 2005). Weitere Indikationen sind der Nachweis einer Fibrinolyse sowie die Beurteilung einer Thrombozytopenie oder Dilutionskoagulopathie. Der Einsatz der Thrombelastographie im Rahmen der Hämophiliebehandlung wurde ebenfalls berichtet (Bassus et al. 2006).

### Testprinzip

Nicht antikoaguliertes Vollblut oder rekalzifiziertes Zitratblut wird in einer zylindrischen Küvette zur Gerinnung gebracht. Mittels eines ebenfalls zylindrischen Stempels wird die Festigkeit des sich bildenden Gerinnsels kontinuierlich aufgezeichnet. Hiermit wird die Gerinnungsaktivierung, Gerinnselbildung und die Stabilität oder Lyse des Gerinnsels detektiert. Zwei verschiedene Geräte werden eingesetzt (ROTEM®, Pentapharm, München; Haemoscope® TEG, Haemoscope, USA). Für das System ROTEM® wurde der Begriff »Thrombelastometrie« bzw. »Rotationsthrombelastometrie« (ROTEM) aufgrund von markenrechtlichen Problemen eingeführt. Von den Messergebnissen sind die beiden Systeme weitgehend analog, Unterschiede gibt es v. a. in Bezug auf die verwendeten Reagenzien.

### Messgröße

Die Gerinnselfestigkeit wird gegen die Zeit aufgetragen. Aus historischen Gründen wird die Kurve zweischenklig ausgegeben und in Millimeter parametrisiert. Eine Vielzahl von Parametern wurde für die Auswertung des Thrombelastogramms beschrieben (siehe Übersicht).

**Die wichtigsten Parameter der Thrombelastographie**

- Gerinnungszeit (»clotting time« [CT] oder Reaktionszeit [r])
- Gerinnselbildungszeit (»clot formation time« [CFT] oder Koagulationszeit [k])
- maximale Gerinnselfestigkeit (»maximum clot firmness« [MCF] oder Maximalamplitude [MA])
- maximale Lyse (ML, in % der maximalen Ausprägung des Gerinnsels)

### Befundmitteilung

Bei der Befundmitteilung empfiehlt es sich, neben den Messwerten (meist CT, CFT, MCF, ML; siehe Übersicht) und dem Referenzbereich eine semiquantitative Bewertung vorzunehmen (z. B. »normwertige Gerinnungsaktivierung, abnormale Gerinnselbildung, kein Nachweis einer Hyperfibrinolyse«). Grenzwertige Befunde sollten wiederholt werden bzw. als solche mitgeteilt werden.

### Untersuchungsmaterial

In der Regel wird 3,2% Zitratblut analysiert. Die Probe sollte mit geringem Sog abgenommen werden. Durch vorsichtiges Schwenken muss eine gute Durchmischung von Blut und Zitrat gewährleistet werden. Die Probe sollte nach 3–4 h analysiert werden.

### Referenzbereich

Es ist zu empfehlen, hausinterne Referenzbereiche durch die Analyse von hämostaseologisch unauffälligen Patienten oder Probanden zu ermitteln bzw. zumindest die Übereinstimmung der im Haus ermittelten Werte mit denen externer Referenzbereiche zu überprüfen.

### Bewertung

Insgesamt ist die funktionelle Bestimmung der Gerinnselbildung in der Thrombelastographie ein Globaltest, der gerade bei komplexen Hämostasestörungen die Beurteilung der Gerinnungssituation unterstützen kann. Das Verfahren ist nicht sensitiv für Acetylsalicylsäure, Clopidogrel, Pentasaccharid sowie eine Von-Willebrand-Erkrankung und relativ unempfindlich gegenüber Effekten von GP-IIb-IIIa-Antagonisten, niedermolekularem Heparin und oralen Antikogulanzien. Ein FXIII-Mangel zeigt sich im Plasma besser als im Vollblut.

**Fibrinolyse.** Eine Auflösung des Gerinnsels in vitro zeigt eine Fibrinolyse an. Dies wird beim Gesunden praktisch nie beobachtet, da im peripheren Blut die Fibrinolysehemmung in der Regel gegenüber der Fibrinolyseaktivierung deutlich überwiegt. Intraoperativ auftretende Hyperfibrinolysen sind häufig mit massiven Blutungen assoziiert. Je kurzfristiger sich die Hyperfibrinolyse manifestiert, desto heftiger ist in der Regel die klinische Blutungssymptomatik (fulminante Lyse mit einer Gerinnselauflösung innerhalb von weniger als 30 min). Eine nach 45 min auftretende Lyse sistiert häufig spontan.

**Gerinnselbildung.** Eine normwertige Gerinnselbildung wird von vielen Zentren als funktioneller Marker einer intakten Vollblutgerinnung verwendet. Es gibt einige Studien, die eine inverse Korrelation zwischen Gerinnselfestigkeit und perioperativen Blutungen bzw. ein verbessertes Gerinnungsmanagement mithilfe von ROTEM oder TEG gezeigt haben (Spalding et al. 2007; Shore-Lesserson et al. 1999). Insgesamt ist die Evidenzbasis jedoch nicht sehr umfangreich. Die Gerinnselfestigkeit schließt Effekte von FXIII, der Fibrinpolymerisation sowie Fibrin-Plättchen-Interaktionen ein und kann deshalb in gewissen Situationen von der Bestimmung des Fibrinogens bzw. der Thrombozytenzahl abweichen.

**Gerinnungsaktivierung.** Die nicht aktivierte Messung in der Thrombelastographie ist wahrscheinlich einer der sensitivsten Gerinnungstests für die Detektion einer Aktivie-

rung oder Hemmung der plasmatischen Gerinnung. Sie ist allerdings sehr unspezifisch, geringste Spuren von Heparin können die Gerinnung komplett hemmen.

## 58.3 PFA-100

### Indikation

Das PFA-100®-System (»platelet function analyzer 100«) wird als Screeningtest bei Verdacht auf eine Von-Willebrand-Erkrankung (Favaloro 2006) oder auf Störungen der primären Hämostase (Koscielny et al. 2004) eingesetzt.

### Testprinzip

Das System simuliert die primäre Hämostase in einem kleinen Blutgefäß (Mammen et al. 1998). Durch eine 3 cm lange Stahlkapillare mit einem Innendurchmeser von 0,2 mm wird Zitratblut mit einem kontinuierlichen Sog von 40 mmHg angesaugt. Dabei passiert das Blut eine zentrale Apertur mit 150 µm Durchmesser innerhalb einer mit Thrombozyteninduktoren und Kollagen beschichteten Membran. Routinemäßig eingesetzt werden die Thrombozytenagonisten Adrenalin (Kollagen/Epinephrin) oder Adenosindiphosphat (Kollagen/ADP). Infolge von Anlagerung und Aggregation kommt es zum Verschluss der Membranöffnung.

### Messgröße

Die Verschlusszeit in Sekunden ist die Zeit vom Beginn der Messung bis eine bestimmte Flussgeschwindigkeit unterschritten wird. Sie wird für die Kollagen-Epinephrin- und Kollagen-ADP-Messzellen getrennt angegeben.



### Befundmitteilung

Bei der Befundmitteillung empfiehlt es sich, neben dem Messwert und dem Referenzbereich eine semiquantitative Bewertung vorzunehmen (normwertig – grenzwertig – moderat verlängert – deutlich verlängert). Hier gilt es zu berücksichtigen, dass die Variationskoeffizienten der PFA-100-Analyse bei verlängerter Verschlusszeit recht hoch sind (Poulsen et al. 2006; Haubelt 2005).

### Untersuchungsmaterial

Es wird der Gebrauch von 129 mmol/l gepuffertem Zitrat empfohlen, da die Messung bei Verwendung von 109 mmol/l ungepuffertem Zitratblut durch Mikrothromben gestört werden kann (Schambeck 2002). Es sollten für die Analyse mindestens 100 Thrombozyten/nl und ein Hämatokrit von mindestens 30% vorliegen. Die Probe sollte nach der Abnahme erst ca. 30 min ruhen und nicht später als 3–4 h nach der Abnahme analysiert werden. Bei der Analyse von intra- und postoperativ abgenommenen Proben kommt es häufig durch Mikrothromben zu »Verschlussfehlern«.

### Referenzbereich

Es ist zu empfehlen hausinterne Referenzbereiche durch die Analyse von hämostaseologisch unauffälligen Patienten oder Probanden zu ermitteln bzw. zumindest die Übereinstimmung der im Haus ermittelten Werte mit denen externer Referenzbereiche zu überprüfen.

### Bewertung

Normwertige Veschlusszeiten in der Kollagen-Epinephrin- und Kollagen-ADP-Messzelle schließen schwere Thrombozytendefekte aus. Ebenso schließen sie eine schwere oder mittelschwere Von-Willebrand-Erkrankung weitgehend aus (Schambeck 2002), eine milde vWE kann hingegen nicht ausgeschlossen werden. Die Sensitivität für Thrombozytopathien, wie z. B. Storage-Pool-Defekte, beträgt ca. 30–70% (Favarolo 2006; Quiroga et al. 2004).

Das PFA-100 erfasst Acetylsalicylsäureeffekte sensitiv, wobei eine Assoziation einer Acetylsalicylsäure-Non-Response im PFA-100 mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse zum Teil nicht gefunden wurde (Topol et al. 2003; Hayward et al. 2006). Clopidogrel verlängert die Verschlusszeiten meist nicht (Mani et al. 2006).

Koscielny und Mitarbeiter berichten über eine hohe Sensitivität und Spezifität der PFA-100-Diagnostik in der präoperativen Abklärung von Patienten mit positiver Blutungsanamnese (Koscielny et al. 2004). In unselektierten Patientengruppen wurde jedoch meist keine enge Korrelation der präoperativen PFA-100-Analyse zum Blutungsrisiko gefunden (Cammerer et al. 2003; Wahba et al. 1998; Lasne et al. 2000). Das PFA-100-System ist als Globaltest der Thrombozytenfunktion nicht spezifisch für einzelne Thrombozytendefekte, den vWF bzw. Medikamenteneffekte (Schambeck 2002).

### Literatur


Bassus S, Wegert W, Krause M et al. (2006) Platelet-dependent coagulation assays for factor VIII efficacy measurement after substitution therapy in patients with haemophilia A. Platelets 17(6): 378–84

Cammerer U, Dietrich W, Rampf T, Braun SL, Richter JA (2003) The predictive value of modified computerized thromboelastography and platelet function analysis for postoperative blood loss in routine cardiac surgery. Anesth Analg 96(1): 51–7

Fattorutto M, Pradier O, Schmartz D, Ickx B, Barvais L (2003) Does the platelet function analyser (PFA-100) predict blood loss after cardiopulmonary bypass? Br J Anaesth 90(5): 692–3

Favaloro EJ (2006) The utility of the PFA-100 in the identification of von Willebrand disease: a concise review. Semin Thromb Hemost 32(5): 537–45

Gum PA, Kottke-Marchant K, Poggio ED, Gurm H, Welsh PA, Brooks L, Sapp SK, Topol EJ (2001) Profile and prevalence of aspirin resistance in patients with cardiovascular disease. Am J Cardiol 88(3): 230–5

Haubelt H, Anders C, Vogt A, Hoerdt P, Seyfert UT, Hellstern P (2005) Variables influencing Platelet Function Analyzer-100 closure times in healthy individuals. Br J Haematol 130(5): 759–67

Hayward CP, Harrison P, Cattaneo M, Ortel TL, Rao AK (2006) Platelet function analyzer (PFA)-100 closure time in the evaluation of platelet disorders and platelet function. J Thromb Haemost 4(2): 312–9

Koscielny J, Ziemer S, Radtke H et al. (2004) A practical concept for preoperative identification of patients with impaired primary hemostasis. Clin Appl Thromb Hemost 10: 195–204

Lang T, Bauters A, Braun SL, Potzsch B, von Pape KW, Kolde HJ, Lakner M (2005) Multi-centre investigation on reference ranges for ROTEM thromboelastometry. Blood Coagul Fibrinolysis 16(4): 301–10

Lasne D, Fiemeyer A, Chatellier G, Chammas C, Baron JF, AiachM (2000) A study of platelet functions with a new analyzer using high shear stress (PFA 100) in patients undergoing coronary artery bypass graft. Thromb Haemost 84: 794–9

Lehman CM, Blaylock RC, Alexander DP, Rodgers GM (2001) Discontinuation of the bleeding time test without detectable adverse clinical impact. Clin Chem 47(7): 1204–11

Luddington RJ (2005) Thrombelastography/thromboelastometry. Clin Lab Haematol 27(2): 81–90

Mammen EF, Comp PC, Gosselin R, Greenberg C, Hoots WK, Kessler CM, Larkin EC, Liles D, Nugent DJ (1998) PFA-100 system: a new method for assessment of platelet dysfunction. Sem Thromb Hemost 24: 195–202

Mani H, Linnemann B, Luxembourg B, Kirchmayr K, Lindhoff-Last E (2006) Response to aspirin and clopidogrel monitored with different platelet function methods. Platelets 17: 303–10

Nitu-Whalley IC, Lee CA, Brown SA, Riddell A, Hermans C (2003) The role of the platelet function analyser (PFA-100) in the characterization of patients with von Willebrand's disease and its relationships with von Willebrand factor and the ABO blood group. Haemophilia 9(3): 298–302

O'Kelly SW, Lawes EG, Luntley JB (1992) Bleeding time: is it a useful clinical tool? Br J Anaesth 68(3): 313–5

Poller L, Thomson JM, Tomenson JA (1984) The bleeding time: current practice in the UK. Clin Lab Haematol 6(4): 369–73

Poulsen TS, Mickley H, Korsholm L, Licht PB, Haghfelt T, Jorgensen B (2007) Using the Platelet Function Analyzer-100 for monitoring aspirin therapy. Thromb Res 120(2): 161–72

Quiroga T, Goycoolea M, Munoz B, Morales M, Aranda E, Panes O, Pereira J, Mezzano D (2004) Template bleeding time and PFA-100 have low sensitivity to screen patients with hereditary mucocutaneous hemorrhages: comparative study in 148 patients. J Thromb Haemost 2(6): 892–8

Rodgers RP, Levin J (1990) A critical reappraisal of the bleeding time. Semin Thromb Hemost 16(1): 1–20

Schambeck CM (2002) PFA-100®: Globaltest der primären Hämostase? Laboratoriums Medizin 26(11–12): 557–562

Shore-Lesserson L, Manspeizer HE, DePerio M, Francis S, Vela-Cantos F, Ergin MA (1999) Thromboelastography-guided transfusion algorithm reduces transfusions in complex cardiac surgery. Anesth Analg 88(2): 312–9

Spalding GJ, Hartrumpf M, Sierig T, Oesberg N, Kirschke CG, Albes JM (2007) Cost reduction of perioperative coagulation management in cardiac surgery: value of »bedside« thrombelastography (ROTEM). Eur J Cardiothorac Surg 31(6): 1052–7

Topol EJ, Gum P, Kottke-Marchant K (2003) Determination of the natural history of aspirin resistance among stable patients with cardiovascular disease: Author Reply. J Am Coll Cardiol 42(7): 1336–7

Wahba A, Sander S, Birnbaum DE (1998) Are in-vitro platelet function tests useful in predicting blood loss following open heart surgery? Thorac Cardiovasc Surg 46(4): 228–31

# 59 Thrombozytenfunktions-untersuchungen

*M. F. Brodde, B. E. Kehrel*



## Einleitung

Thrombozytenfunktionsuntersuchungen bestimmen die Fähigkeit des Thrombozyten nach Stimulation zu adhärieren und aggregieren. In Abhängigkeit von den eingesetzten Agonisten wird die Funktionsfähigkeit von unterschiedlichen thrombozytären Signaltransduktionswegen überprüft, sodass aus dem Reaktionsmuster erste differenzialdiagnostische Rückschlüsse gezogen werden können. Die Thrombozytenfunktionstestung ist meist technisch aufwendig und sollte daher nur bei klinischem Verdacht auf Vorliegen einer Thrombozytenfunktionsstörung erfolgen. Eine weitere Indikation ist die Überwachung einer Therapie mit Thrombozytenfunktionshemmern.

## 59.1 Indikation

Eine klinisch relevante Blutungsneigung des Patienten oder seiner Blutsverwandten gibt Anlass für eine Thrombozytenfunktionsuntersuchung. Vor Abklärung einer möglichen Thrombozytendysfunktion sind eine umfassende Erhebung von Eigen- und Familienanamnesen (einschließlich Medikamentenanamnese) notwendig sowie eine genaue klinische Untersuchung. Kein zurzeit angewendeter Labortest ist in der Lage, ein zu erwartendes Blutungsrisiko bei operativen Eingriffen besser abzuschätzen, als dies über die Anamnese möglich ist.

Da Untersuchungen der Thrombozytenfunktion arbeitsintensiv und teuer sind und Funktionsuntersuchungen nur mit frisch entnommenem Blut durchgeführt werden können, sollte zuerst eine umfassende Labordiagnostik der »nicht zellulären« Hämostase erfolgen.

Eine in vivo gesteigerte Aktivierung von Thrombozyten wird als Ursache für atherosklerotische Gefäßveränderungen und arterielle Thrombosen diskutiert. Thrombozytenfunktionstests bei Thromboseneigung haben aber noch keinen Eingang in die Routine gefunden und sind zurzeit noch Speziallaboren für Forschungsuntersuchungen vorbehalten.

Ein weiterer Anlass für die Durchführung von Thrombozytenfunktionstests kann ein Drug-Monitoring einer thrombozytenhemmenden Therapie sein.

## 59.2 Untersuchungsmethoden

Es gibt keinen singulären Labortest, mit dem alle Thrombozytenfunktionsstörungen identifiziert und differenziert werden können.

### Blutungszeit

Die Blutungszeit direkt am Patienten ist als Screeningmethode nicht zu empfehlen, da das Ergebnis durch viele Fehlerquellen wie Umgebungstemperatur, Hautdicke- und qualität, vaskuläre Situation, Thrombozytenzahl etc. beeinflusst werden kann. Über die Blutungszeit ist eine Vorhersage, ob ein Patient bei einem operativen Eingriff verstärkt bluten wird, ebenso wenig möglich (Lind 1991) wie gastrointestinale Blutungen bei Patienten mit Leberzirrhose (Basili et al. 1996) vorhersagbar sind. Als Spezialtest, durch erfahrene Untersucher ausgeführt, ist die Ermittlung der Blutungszeit bei der Abklärung von angeborenen Thrombozytopathien jedoch sinnvoll.

### In-vitro-Blutungszeit

Die sogenannte In-vitro-Blutungszeit durch den PFA-100 (»platelet function analyzer 100«) eignet sich als Screeningtest nur für Thrombozytenfunktionsstörungen, bei denen das Einwirken von hohen Scherkräften zentral ist, wie z. B. eine ausgeprägte Von-Willebrand-Erkrankung. Die Einnahme von Acetylsalicylsäure kann durch das PFA-100 erkannt werden. Viele andere Störungen der Thrombozytenfunktion wie eine »storage pool disease«, verminderter thrombininduzierter thrombozytärer Thrombin-Burst und der Einfluss von ADP-Rezeptorantagonisten (Clopidogrel, Prasugrel) können mit dieser Methode nicht sicher erfasst werden.

**! Daher schließt eine normale Verschlusszeit im PFA-100 eine klinisch relevante Thrombozytenfunktionsstörung nicht aus.**

Die Verschlusszeit ist abhängig vom Hämatokrit und der Thrombozytenzahl. Referenzbereich im 0,129 molaren Zitratblut (Mammen et al. 1998):
- Kollagen/Epinephrin: 85–165 s Verschlusszeit
- Kollagen/ADP: 72–120 s Verschlusszeit

### Thrombozytenaggregation nach Born

Die Thrombozytenaggregation nach Born (1963) ist im Routinebetrieb immer noch die etablierteste Methode zur Erfassung angeborener, erworbener oder medikamentös induzierter Thrombozytenfunktionsstörungen. Plättchenreiches Plasma (PRP) wird bei 37°C und definierter Rührgeschwindigkeit in einer Küvette zwischen einer Lichtquelle und einer Photozelle platziert. Durch Zugabe von

Agonisten aggregieren die Thrombozyten und die Lichtdurchlässigkeit steigt. Die Lichttransmission des plättchenarmen Plasmas (PPP) wird als 100%, die des PRP als 0% definiert. Gemessen werden die Verzögerungszeiten (»lag time«) bis zum Ansprechen auf den Agonisten, die Steilheit der Kurve als Maß für die Aggregationsgeschwindigkeit und das Ausmaß der Aggregation. Zusätzlich wird beobachtet, ob eine Desaggregation stattfindet (Abb. 59.1).

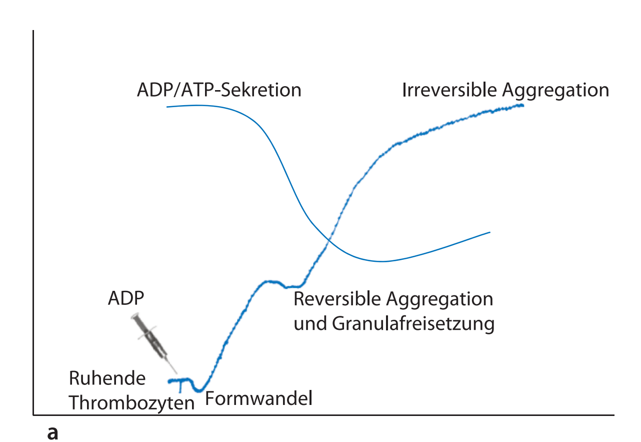
**Da für die Plättchenaggregation die Kontaktmöglichkeit zwischen den Thrombozyten von entscheidender Wichtigkeit ist, muss die Thrombozytenzahl für diese Methode >100.000/µl sein. Bei geringerer Thrombozytenzahl sind die Ergebnisse nur wenig aussagekräftig.**

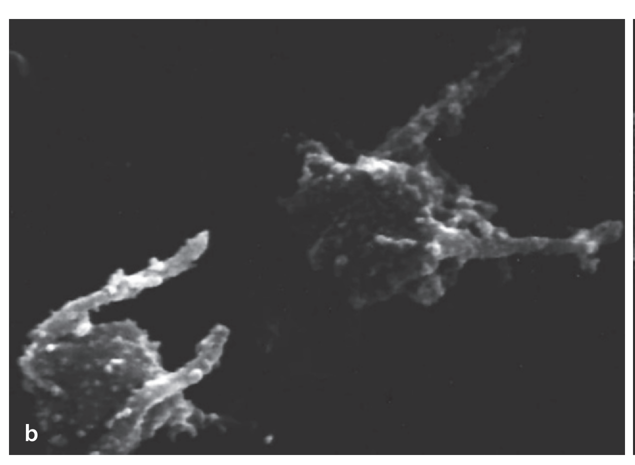
Die Methode ist sensibel gegenüber den verschiedenartigsten Fehlerquellen wie Luftblasen in der Küvette, Trübung durch lipämisches, ikterisches oder hämolytisches Plasma, residuale Erythrozyten oder selbst hergestellte, scharfkantige Rührstäbchen. Die Thrombozytenaggregation mit ADP und Kollagen ist bei 28°C deutlich stärker als bei 37°C (Xavier et al. 2007). Daher sind einheitliche Bedingungen unbedingt einzuhalten.

Eigene Referenzwerte für die Aggregation sollte jedes Labor anhand von mindestens 30 gesunden, erwachsenen Blutspendern beiderlei Geschlechts etablieren (Tab. 59.1). Für Kinder müssen altersabhängige Normwerte ermittelt werden. Die Referenzwerte für Kollagen variieren stark in der Abhängigkeit von der Art des verwendeten Kollagens. Handelsübliche Kollagene für die Aggregometrie bilden dicke, lange Fibrillen aus, an denen eine Thrombozytenadhäsion und -aggregation stattfindet. So kann durch eine Adhäsion an Kollagen über GP Ia-IIa und GP VI auch bei

**Tab. 59.1.** Beispiel für laboreigene Referenzbereiche der Thrombozytenaggregation nach Born

| Agonist | Konzentration | Referenzbereich [%] |
|---|---|---|
| Horm-Kollagen | 2,0 µg/ml | 75–95 |
| Lösliches Kollagen | 0,3 µg/ml | 75–100 |
| ADP | 1,0 µmol/l | 20–90 |
| | 2,0 µmol/l | 40–95 |
| | 5,0 µmol/l | 70–100 |
| Adrenalin | 8,0 µmol/l | 60–95 |
| Arachidonsäure | 1,0 µmol/l | 70–95 |
| TRAP-6 (Thrombinrezeptor-aktivierendes Peptid 6) | 20 µmol/l | 70–100 |
| Ristocetininduzierte Agglutination über vWF | 0,4 mg/ml | <10 |
| | 1,2 mg/ml | 60–95 |
| | 1,5 mg/ml | 75–100 |



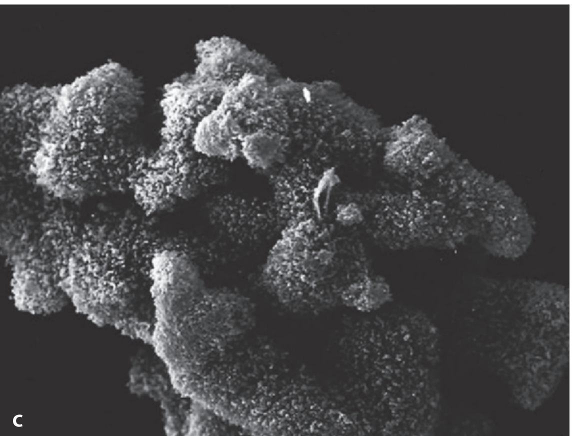




**Abb. 59.1a–c.** Thrombozytenaggregation. **a** Messung der Thrombozytenaggregation nach Born. Messgröße ist die Lichtdurchlässigkeit, die zu Beginn der Untersuchung niedrig ist und mit der Bildung von irreversiblen Thrombozytenaggregaten zunimmt, **b** Formwandel der Thrombozyten während der Messung, **c** Irreversible Aggregation

der Glanzmann-Krankheit eine Aggregation der Plättchen durch Kollagen vorgetäuscht werden. Dieses Problem kann durch Verwendung von löslichem Kollagen umgangen werden. Eine Tabelle typischer Aggregationsbefunde bei angeborenen Thrombozytopathien findet sich in ▶ Kap. 30.3 (◘ Tab. 30.11).

Neben der turbidometrischen Aggregometrie nach Born besteht auch die Möglichkeit, die Aggregationsfähigkeit der Thrombozyten nach Zugabe von Agonisten durch Impedanzaggregometrie, Multiplate-Mehrfachelektroden-Aggregometrie (durch kontinuierliche Beobachtung des Widerstands zwischen Elektroden), »rapid platelet function assay« (Aggregation mit fibrinogenbeschichteten Partikeln) und Zählen der singulären Plättchen nach Storey et al. (1999) zu untersuchen. Diese Methoden erlauben die Untersuchung der Aggregationsfähigkeit auf individuelle Agonisten im antikoagulierten Vollblut.

### Rheologische Thrombozytenfunktionstestung

Die Adhäsions- und Aggregationsfähigkeit der Thrombozyten auf einer Oberfläche lässt sich durch Messung im »cone and plate(let) analyzer« (CPA; Impact R) untersuchen. Die durch Drehung eines Konus entstehenden Scherkräfte können dabei die rheologischen Verhältnisse in verschiedenen Blutgefäßen simulieren. Zwischen 200/s und 3.200/s kann variiert werden. Somit können Untersuchungen bei niedrigem und hohem Scherstress durchgeführt werden. Untersuchungen zur Adhäsion von Thrombozyten an einem Endothelmonolayer sind für Forschungszwecke möglich.

Zugabe einer kleinen Menge Plasmas eines Patienten mit thrombotisch-thrombozytopenischer Purpura (TTP) zu Blut einer Normalperson führt zu einer erhöhten Adhäsion und Aggregation im CPA, während Zugabe von Plasma von Patienten mit anderen thrombotischen Mikroangiopathien durch Verdünnungseffekt zu einer Abnahme führt (Budde u. Schneppenheim 2004).

### Durchflusszytometrie

Alle bisher aufgeführten Methoden sind stark abhängig von der Thrombozytenzahl und daher nicht geeignet zur Analyse von Patienten mit Thrombozytopenie (Thrombozytenzahl <100.000/µl). Zur genaueren Abklärung einer Thrombozytopathie empfiehlt sich die Durchflusszytometrie. Ist der Schweregrad der Blutungsneigung nicht durch die Verminderung der Thrombozytenzahl erklärbar, so empfiehlt sich diese Untersuchungsmethode.

Für die durchflusszytometrische Abklärung der funktionellen Kapazität der Thrombozyten ist weniger Blut notwendig als für die Aggregometrie. Daher kann diese auch bei Säuglingen durchgeführt werden. Grundsätzlich ist bei jeder durchflusszytometrischen Untersuchung der Thrombozyten das Blut einer gesunden Kontrollperson mit zu untersuchen. Die Standarduntersuchungen der funktionellen Kapazität der Thrombozyten sind in der Übersicht zusammengestellt.

**Standarduntersuchungen der funktionellen Thrombozytenkapazität**

- agonistinduzierte Bindung von Fibrinogen an die Thrombozytenoberfläche (Beispiel: ADP-induzierte Aktivierung, ◘ Abb. 59.2a)
- Präsentation von CD62-P (P-Selektin) auf der Thrombozytenoberfläche als Marker für die Exozytose der α-Granula (Beispiel: thrombininduzierte Aktivierung, ◘ Abb. 59.2b)
- Präsentation von CD63 (Granulophysin) auf der Thrombozytenoberfläche als Marker für die Exozytose der »dense bodies« und Lysosomen (Beispiel: kollageninduzierte Aktivierung, ◘ Abb. 59.2c)
- ristocetin- oder botrocetininduzierte Bindung des Von-Willebrand-Faktors an die Thrombozytenoberfläche (Beispiel: ristocetininduzierte vWF-Bindung, ◘ Abb. 59.2d)
- Einlagerung von Mepacrine in die »dense bodies«
- Einlagerung von Mepacrine in die »dense bodies«; agonisteninduzierte Freisetzung von Mepacrine zur Abklärung einer Storage-Pool-Erkrankung

Diese Standarduntersuchungen werden nur in dafür spezialisierten Laboren durchgeführt. Zur Kontrolle des Ansprechens auf eine Therapie mit Thienopyridinen eignet sich gut die durchflusszytometrische, intrazelluläre Messung der VASP-Phosphorylierung (VASP = »vasodilator-stimulated phosphoprotein«).

Für die durchflusszytometrische Untersuchungen der Thrombozytenfunktion muss jedes Labor – wie auch für die Aggregation nach Born üblich – eigene Normwerte für Erwachsene bestimmen. Weiterführende durchflusszytometrische Untersuchungsmethoden der funktionellen Kapazität und des Aktivierungszustands der Thrombozyten sind in ▶ Kap. 30.3 aufgeführt.

### Endogenes Thrombinbildungspotenzial

Ein Aspekt der Thrombozytenfunktion, der bisher bei der Diagnostik von Thrombozytopathien nicht genügend beachtet wird, ist der Thrombin- oder TF-induzierte Thrombin-Burst auf der Thrombozytenoberfläche oder der Oberfläche von thrombozytären Mikropartikeln. Mehrere Methoden wurden zur Erfassung dieses Aspekts entwickelt, z. B. das endogene Thrombinbildungspozential im plättchenreichen Plasma durch TF (nach Beguin et al. 1989), die thrombininduzierte Thrombinbildung (Dörmann et al. 2000) und das Thrombinoskop, in dem fluorimetrisch im

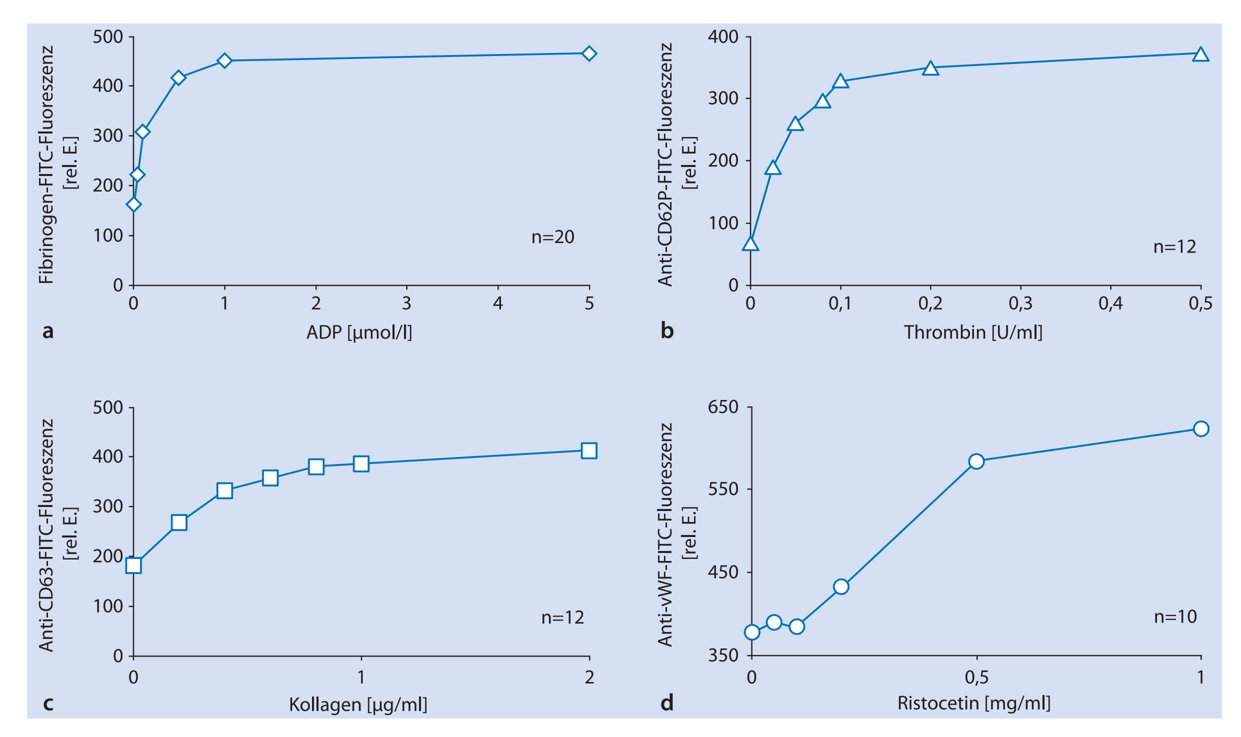



**Abb. 59.2a–d.** Durchflusszytometrische Bestimmung der Thrombozytenaktivierung. In dieser indirekten Methode wird die mit der Thrombozytenaktivierung verbundene zunehmende Rezeptorendichte durch die Bindung markierter Liganden gemessen. **a** ADP-induzierte Aktivierung, **b** thrombininduzierte Aktivierung, **c** kollageninduzierte Aktivierung, **d** ristocetininduzierte vWF-Bindung *FITC* Fluoreszeinisothiozyanat (Fluoreszenzfarbstoff)

plättchenreichen Plasma die Thrombinbildung gemessen werden kann.

## 59.3 Bewertung

Für die einzelnen Untersuchungsverfahren sollten laborspezifische Referenzbereiche ermittelt werden, da allgemein übertragbare Referenzbereiche nicht zur Verfügung stehen. Bei Kindern und Neugeborenen ist es meist nicht möglich, laborspezifische Referenzwerte zu erheben. Hier kann auf in der Literatur publizierte Referenzbereiche zurückgegriffen werden.

## 59.4 Untersuchungsmaterial und Präanalytik

Untersuchungsmaterial für die meisten Thrombozytenfunktionsuntersuchungen ist plättchenreiches Plasma, das aus einer mit Zitrat antikoagulierten Vollblutprobe durch Zentrifugation mit 120 × g für 20 min bei Raumtemperatur gewonnen wird. Zur Bestimmung der Impedanzaggregometrie wird das Blut mit einem Thrombininhibitor antikoaguliert. Die Bestimmung ist mit Vollblut und plättchenreichem Plasma möglich. Zur PFA-Analytik wird mit gepuffertem Zitrat antikoaguliertes Vollblut eingesetzt (▶ Kap. 58).

Die Blutentnahme muss möglichst atraumatisch mit einer großkalibrigen Kanüle ≥19 G und ohne übermäßige Stauung der Venen erfolgen. Eine Entnahme mit Vacutainer-System ist zu vermeiden. Die Blutentnahme sollte langsam erfolgen und die Blutentnahmeröhrchen sind exakt zu befüllen. Jedes einzelne Blutentnahmeröhrchen muss zur gleichmäßigen Verteilung des vorgelegten Antikoagulans unmittelbar nach dem Füllen vorsichtig Kopf über geschwenkt werden.

Die Blutproben dürfen in keinem Fall gekühlt gelagert werden, sondern sind sofort zum Labor zu transportieren. Dabei sollten die Blutproben vor Kälte und Wärme geschützt werden. Die Thrombozytenfunktionstestungen sollten optimaler Weise in einem Zeitraum von 2 h nach Blutentnahme abgeschlossen sein.

Thrombozytenfunktionsuntersuchungen sind mit lipämischen, hämolytischen oder stark ikterischen Proben nicht sinnvoll.

## Literatur

Basili S, Ferro D, Leo R, Juliano L, Alessandri C, Cordova C, Violi F (1996) Bleeding time does not predict gastrointestinal bleeding in patients with cirrhosis. The CALC Group (Coagulation Abnormalities in Liver Cirrhosis). J Hepatol 24(5): 574–80

Béguin S, Lindhout T, Hemker HC (1989) The effect of trace amounts of tissue factor on thrombin generation in platelet rich plasma, its inhibition by heparin. Thromb Haemost 61(1): 25–9

Born GV, Cross MJ (1963) The aggregation of blood platelets. J Physiol 168: 178–95

Budde U, Schneppenheim R (2004) Von Willebrand factor cleaving protease and thrombotic microangiopathy. J Lab Med 28 506–513

Dörmann D, Clemetson KJ, Kehrel BE (2000) The GPIb thrombin-binding site is essential for thrombin-induced platelet procoagulant activity. Blood 96(7): 2469–78

Jurk K and Kehrel BE (2007) Inherited and Acquired Disorders of Platelet Function. Transfus Med Hemother 34: 6–19

Kehrel BE, Glauner M, Roberts S, Trenkmann K, Clemetson KJ, Nowak-Göttl U (2001) Platelet functions in children from different ages. Blood 98: 251

Lind SE (1991) The bleeding time does not predict surgical bleeding. Blood 77(12): 2547–52

Mammen EF, Comp PC, Gosselin R, Greenberg C, Hoots WK, Kessler CM, Larkin EC, Liles D, Nugent DJ (1998) PFA-100 system: a new method for assessment of platelet dysfunction. Semin Thromb Hemost 24(2): 195–202

Storey RF, May JA, Wilcox RG, Heptinstall S (1999) A whole blood assay of inhibition of platelet aggregation by glycoprotein IIb/IIIa antagonists: comparison with other aggregation methodologies. Thromb Haemost 82(4): 1307–11

Xavier RG, White AE, Fox SC, Wilcox RG, Heptinstall S (2007) Enhanced platelet aggregation and activation under conditions of hypothermia. Thromb Haemost 98(6): 1266–75

# 60 Nachweis von thrombozytären Antikörpern

*V. Kiefel*



## Einleitung

Thrombozytäre Antikörper im Serum wurden bei den ersten beschriebenen Tests (sog. Phase-I-Tests) indirekt anhand von Folgereaktionen der Antikörperbindung an Thrombozyten bestimmt: Komplementaktivierung, Aggregation/Agglutination, Freisetzung von $^{14}$C-Serotonin, Hemmung der Gerinnselretraktion. Die mangelnde Sensitivität und Spezifität dieser ersten Tests führte zur Entwicklung von Untersuchungsverfahren, bei denen die Bindung der Antikörper mithilfe von markiertem Antihumanglobulin (meist Anti-IgG, seltener Anti-IgM, Anti-IgA) meist in Immunfluoreszenztests oder in Enzymimmuntests bestimmt wird (Phase-II-Tests). Dabei werden halbquantitative direkte Bindungstests von kompetitiven Verfahren unterschieden, die teilweise auch eine Quantifizierung der Menge plättchengebundener Antikörper erlauben. Bei Phase-III-Tests bestimmt man die Antikörperbindung an Determinanten thrombozytärer Glykoproteine. Diese Verfahren erlauben zusätzlich die Analyse von Antikörpergemischen und den Nachweis von Antikörpern gegen Antigene mit extrem geringer Antigendichte auf Thrombozyten. Im Folgenden werden ausschließlich Phase-II- und Phase-III-Tests beschrieben.

## 60.1 Nachweis thrombozytenreaktiver Antikörper in Serum oder Plasma

### Indikation

Grundsätzlich kann man die Suche nach thrombozytären Antikörpern mit einem Verfahren beginnen, bei dem man die Bindung der Antikörper an intakte Thrombozyten untersucht. So weist ein Teil der Patienten mit einer Autoimmunthrombozytopenie »freie« thrombozytäre Autoantikörper im Serum auf, die auf diese Weise bestimmt werden können. Ähnlich beginnt man bei Patienten mit einer vermuteten medikamentinduzierten Immunthrombozytopenie mit einem solchen für diese Fragestellung modifizierten Verfahren (▶ Kap. 60.4).

Auch thrombozytäre Alloantikörper können grundsätzlich mit einem Immunglobulinbindungstest unter Verwendung intakter Thrombozyten nachgewiesen werden. Leider gibt es Probleme, die den Wert solcher Antiglobulinbindungstests einschränken: Viele Patientenproben enthalten Gemische von Antikörpern gegen verschiedene Antigene auf Thrombozyten. Ein besonderes Problem stellen hierbei Antikörper gegen HLA (humanes Leukozytenantigen) Klasse I dar. Diese entstehen infolge früherer Transfusionen oder bei weiblichen Patienten im Rahmen von früheren Schwangerschaften. HLA-Klasse-I-Antikörper müssen bei der Diagnose von Immunthrombozytopenien von »plättchenspezifischen« Antigenen (gerichtet gegen Determinanten auf den thrombozytären Glykoproteinen IIb-IIIa, Ia-IIa, Ib-IX-V, CD36, CD109) unterschieden werden. Dies ist mit den im Folgenden beschriebenen glykoproteinspezifischen Tests möglich. Lediglich bei »Crossmatches« zur Überprüfung der Kompatibilität von Thrombozytenkonzentraten bei immunisierten Patienten ist ein (zeitsparender) Test unter Verwendung von intakten Thrombozyten allein ausreichend, wenn zuvor eine differenzierte Analyse des Patientenserums vorgenommen wurde.

### Testprinzip

Die folgenden Antiglobulinbindungstests setzen die Verfügbarkeit eines Panels aus Testthrombozyten voraus, die von Spendern mit bekannten thrombozytären Alloantigenen (HPA = »human platelet antigen«, ▶ Kap. 30.2) und mit bekannten HLA Klasse I stammen. Üblicherweise verwendet man Thrombozyten von Spendern der Blutgruppe 0, da A- und B-Determinaten auf Thrombozyten exprimiert sind.

#### Plättchen-Immunfluoreszenztest (PIFT)

Mit Formaldehyd fixierte Thrombozyten werden in dem zu untersuchenden Serum inkubiert, mit plasmafreiem Puffer gewaschen und in verdünntem fluoreszenzmarkiertem Anti-IgG inkubiert (von dem Borne et al. 1978). Nach einem weiteren Waschvorgang wird die thrombozytengebundene Fluoreszenz in einem Fluoreszenzmikroskop bestimmt, alternativ kann sie auch durchflusszytometrisch quantifiziert werden. Bei einer Variante dieses Verfahrens werden frische, unfixierte Thrombozyten auf Objektträgern aus Glas zur Adhäsion gebracht, was Wasch- und Inkubationsvorgänge etwas vereinfacht (Schneider u. Schnaidt 1981).

Beim Immunfluoreszenztest ist die auszutestende geeignete Konjugatkonzentration die höchste Konzentration, bei der normale Seren ohne thrombozytäre Antikörper gerade noch keine im Mikroskop erkennbare Fluoreszenz ergeben.

### Enzymimmuntest

Testthrombozyten werden in dem zu untersuchenden Serum inkubiert, in isotonischer Kochsalzlösung gewaschen, in einer Verdünnung eines mit alkalischer Phosphatase markierten Anti-human-IgG suspendiert und nach einem weiteren Waschvorgang in der Lösung eines Substrats, das vom Enzym in ein farbiges Produkt umgewandelt wird, suspendiert (Kiefel u. Santoso 2004). Zur photometrischen Messung werden nach dem Stoppen der Reaktion die Thrombozyten abzentrifugiert und die Überstände in eine neue Mikrotiterplatte überführt.

Für jede Charge des enzymmarkierten Anti-IgG (im Folgenden »Konjugat« genannt) ist eine geeignete Konzentration zu bestimmen. Im eigenen Labor wird die Konzentration beim Enzymimmuntest meist so festgelegt, dass Seren von Individuen ohne in anderen Verfahren nachweisbare thrombozytenreaktive Antikörper Extinktionen von maximal 0,15 OD (»optical density«) ergeben.

### Messgröße und Befundmitteilung

Resultate des PIFT werden laborintern meist als Scores dokumentiert, Resultate des Enzymimmuntests als Extinktionen, bei der Befundmitteilung werden auch diese häufig in beschreibende Aussagen zur Antikörperkonzentration umgesetzt, denen zweckmäßigerweise eine vierstufige Scoring-Skala zugrunde liegen kann (negativ, schwache, mittelgradige, starke Reaktion).

Die Mitteilung von Extinktionen allein ist wenig aussagefähig, da sie besonders bei In-House-Verfahren stark von Thrombozytenzahl, Konjugatverdünnung und der Art der Waschvorgänge abhängt. Zur Verlaufsbeobachtung der Antikörperkonzentration bei einzelnen Patienten können auch Titer bestimmt werden. Im Regelfall wird die Untersuchung einer Probe mit einem dieser Verfahren der Ausgangspunkt für weitergehende Untersuchungen sein. Beim Einsatz als Crossmatch ist eine qualitative Ergebnismitteilung »negativ/positiv« ausreichend.

## 60.2 Nachweis glykoproteinspezifischer Antikörper in Serum oder Plasma

### Indikation

Bei allen Formen von Immunthrombozytopenie, bei denen Antikörper gegen thrombozytäre Glykoproteine (GP IIb-IIIa, Ia-IIa, Ib-IX-V, CD109) die Diagnose sichern (neonatale Alloimmunthrombozytopenie [NAIT], posttransfusionelle Purpura [PTP], Autoimmunthrombozytopenie [AITP]), werden diese mit einem der im Folgenden beschriebenen glykoproteinspezifischen Verfahren nachgewiesen.

### Testprinzip

#### MAIPA-Assay

Der MAIPA-Assay (»monoclonal antibody immobilization of platelet antigens assay«) ist ein glykoproteinspezifischer Enzymimmuntest, der mithilfe monoklonaler Antikörper eine direkte Identifizierung der von humanen thrombozytenreaktiven Antikörpern erkannten Glykoproteine (GP) erlaubt (Kiefel et al. 1987b; Kiefel 1992). Dazu werden Testthrombozyten mit dem zu untersuchenden Serum inkubiert, gewaschen und anschließend in der Verdünnung eines (murinen) monoklonalen Antikörpers inkubiert, der das interessierende Glykoprotein »markiert«. Nach einem weiteren Waschvorgang werden die Thrombozyten anschließend solubilisiert. Das Lysat wird dann in die Vertiefungen einer Mikrotiterplatte pipettiert, die zuvor mit Anti-Maus-IgG beschichtet wurden. Humane Antikörper, die am immobilisierten Glykoprotein gebunden sind, werden mit einem peroxidasemarkierten Anti-human-IgG nachgewiesen.

Beim Nachweis bestimmter Antikörperspezifitäten sind folgende Besonderheiten zu beachten: Beim Nachweis von Anti-HPA-2a/2b müssen wegen der ausgeprägten Proteasesensitivität von GP Ibα die Tests mit frisch zuvor gewonnenen Testzellen angesetzt werden und den Thrombozytensuspensionen und dem Lysepuffer sind Proteaseinhibitoren zuzusetzen. Beim Nachweis von Anti-HPA-15a/b müssen die Tests ebenfalls mit frisch gewonnenen Testthrombozyten durchgeführt werden, und es ist wegen der extrem niedrigen Antigendichte eine ausreichend hohe Zahl an Testthrombozyten zu verwenden.

#### Weitere Methoden

Von McMillan und Mitarbeitern wurde der Immunobead-Assay beschrieben, dessen Eignung für verschiedene Fragestellungen derjenigen des MAIPA-Assays entsprechen dürfte (McMillan et al. 1987). Inzwischen werden auch kommerzielle GP-spezifische Enzymimmuntests in einer »Festphasen-Sandwich-Konfiguration« vertrieben. Diese Assays weisen eine teilweise geringere Flexibilität auf, weil die Testzellen meist fest vorgegeben sind. Grundsätzlich können auch allgemeine immunchemische Nachweisverfahren verwendet werden, bei denen die von thrombozytären Antikörpern erkannten Antigene anhand ihres Molekulargewichts in der SDS-PAGE identifiziert werden (Immunoblot, Immunpräzipitation). Wegen ihres größeren technischen Aufwands kommen solche Verfahren heute v. a. bei wissenschaftlichen Fragestellungen zum Einsatz.

### Messgröße und Befundmitteilung

Im MAIPA-Assay werden Extinktionen ermittelt, sie können zur Befundmitteilung in beschreibende Aussagen zur Antikörperkonzentration umgesetzt werden, denen zweckmäßigerweise eine vierstufige Scoring-Skala zugrunde lie-

gen kann (negativ, schwache, mittelgradige, starke Reaktion). Zur Verlaufsbeobachtung können auch Titer bestimmt werden. Unter Verwendung eines international vereinbarten Standards werden Antikörperkonzentrationen semiquantitativ in Einheiten angegeben (Bertrand et al. 2005). Ein solcher Standard existiert inzwischen für Anti-HPA-1a. Wichtig ist, dass bei Alloantikörpern eine serologische Spezifität angegeben wird, sofern das verwendete Testzellpanel eine solche Aussage erlaubt.

## 60.3 Nachweis glykoproteinspezifischer thrombozytärer Antikörper auf den autologen Thrombozyten (GP-PAIgG)

### Indikation

Die Indikation zur Bestimmung von glykoproteinspezifischem IgG auf Patiententhrombozyten (GP-PAIgG) ist in Fällen von Thrombozytopenie gegeben, bei denen eine Autoimmunthrombozytopenie vermutet wird, und bei erworbenen Thrombozytenfunktionsstörungen, bei denen eine immunologische Genese (Autoantikörper) vermutet wird (erworbene Thrombasthenie, ▶ Kap. 30.2). Auch bei posttransfusioneller Purpura ist meist eine IgG-Beladung von GP IIb-IIIa der autologen Thrombozyten festzustellen.

Die (semi-)quantitative Bestimmung von plättchenassoziiertem IgG (PAIgG) auf der Oberfläche von intakten Thrombozyten und die quantitative Messung von IgG in Lysaten von gewaschenen Thrombozyten hat sich für die Diagnose der Autoimmunthrombozytopenie als ungeeignetes diagnostisches Verfahren erwiesen, da es eine unzureichende Spezifität aufwies: erhöhte Mengen an PAIgG wurden auch bei solchen Patienten nachgewiesen, bei denen eine nicht immunologisch induzierte Thrombozytopenie vorlag. Solche Verfahren sollten deshalb nicht mehr eingesetzt werden. Der Nachweis von GP-PAIgG weist eine hohe Spezifität für die Diagnose einer AITP auf (Kiefel et al. 1996).

### Testprinzip

Der oben beschriebene glykoproteinspezifische Enzymimmuntest (MAIPA) zum Nachweis von Antikörpern gegen Thrombozyten in Serum oder Plasma wird so abgeändert, dass man autologe Patiententhrombozyten mit (in getrennten Ansätzen) monoklonalen Antikörpern gegen verschiedene thrombozytäre Glykoproteine reagieren lässt und damit die Beladung der autologen Thrombozyten mit glykoproteinspezifischem IgG (GP-PAIgG) misst. Ein kommerziell angebotenes Testverfahren beruht auf der Untersuchung eines von den autologen Thrombozyten hergestellten Eluats in einem GP-spezifischen Enzymimmuntest. Als ebenfalls für die Diagnose Autoimmunthrombozytopenie spezifischer Test hat sich die Untersuchung eines Säureeluats autologer Thrombozyten in einem Immunfluoreszenztest erwiesen (Kiefel et al. 1996).

### Messgröße und Befundmitteilung

Die Befundmitteilung entspricht der beim Nachweis glykoproteinspezifischer Antikörper in Serum oder Plasma unter Angabe der Glykoproteine auf den autologen Thrombozyten, die vermehrt mit IgG beladen sind. Thrombozytäre Autoantikörper reagieren meist mit GP IIb-IIIa oder/und GP Ib-IX-V.

## 60.4 Nachweis medikamentabhängiger Antikörper in Serum oder Plasma

### Indikation

Die Untersuchung auf medikamentabhängige Antikörper kann indiziert sein, wenn es Hinweise darauf gibt, dass es zu (einer meist ausgeprägten) Thrombozytopenie im Zusammenhang mit der Einnahme von Substanzen kommt, bei denen bekannt ist, dass sie medikamentinduzierte Immunthrombozytopenien auslösen können (▶ Kap. 30.2). Ein weiterer Hinweis auf eine medikamentinduzierte Immunthrombozytopenie ergibt sich aus dem raschen Anstieg der Thrombozytenzahl nach Weglassen der auslösenden Substanz. Entsprechende Untersuchungen werden gegenwärtig ausschließlich mit In-House-Verfahren durchgeführt, deren Einsatz einschlägige Erfahrungen voraussetzen.

### Testprinzip

Medikamentabhängige Antikörper (»drug dependent antibodies«, DDAB) gegen Thrombozyten können mit unterschiedlichen Techniken nachgewiesen werden. Wenn Antiglobulinbindungstests verwendet werden, sollten sie die in der Übersicht dargestellten Schritte beinhalten.

**Antiglobulinbindungstests**

Prinzip: Nachweis medikamentabhängiger Antikörper

1. Inkubation von Thrombozyten plus Patientenserum plus gelöstem Medikament
2. Waschen der Thrombozyten (Puffer mit gelöstem Medikament)
3. Inkubation von Thrombozyten plus Konjugat (markiertes Anti-IgG/IgM) plus gelöstes Medikament
4. Waschen der Thrombozyten (Puffer mit gelöstem Medikament)
5. Nachweis des zellgebundenen Antikörper-Konjugat-Komplexes

**Tab. 60.1.** Interpretation von Antiglobulinbindungstests zum Nachweis medikamentabhängiger Antikörper

| Thrombozyten | Medikament | Serum | Reaktion | Interpretation |
|---|---|---|---|---|
| + | + | Patient | + | Medikamentabhängiger Antikörper |
| + | – | Patient | – | |
| + | + | Normales Serum | – | |
| + | – | Normales Serum | – | |
| + | + | Patient | + | Autoantikörper, Alloantikörper |
| + | – | Patient | + | |
| + | + | Normales Serum | – | |
| + | – | Normales Serum | – | |
| + | + | Patient | + | Durch Medikament ausgelöste unspezifische Adsorption von Immunglobulinen |
| + | – | Patient | – | |
| + | + | Normales Serum | + | |
| + | – | Normales Serum | – | |
| + | + | Patient | – | Negatives Resultat |
| + | – | Patient | – | |
| + | + | Normales Serum | – | |
| + | – | Normales Serum | – | |

Bei diesem Vorgehen ist ein typischer Antikörper nur nachgewiesen, wenn der Testansatz ein positives Resultat ergibt und wenn Kontrollansätze (Weglassen des Medikaments, Untersuchung von normalem Serum in Gegenwart des Medikaments) negativ ausfallen (Tab. 60.1). In einem ersten Schritt wird man einen Test mit intakten, nicht lysierten Thrombozyten verwenden, in einem zweiten Schritt kann man versuchen, das Zielantigen mit einem GP-spezifischen Test zu identifizieren (z. B. MAIPA; George et al. 2006).

Gelegentlich ist es nicht das Medikament selbst, sondern einer seiner Metaboliten, der für die medikamentinduzierte Immunthrombozytopenie verantwortlich ist. Zur Untersuchung der Proben müssen dazu die Nachweisverfahren entsprechend modifiziert werden (Kiefel et al. 1987a).

### Messgröße und Befundmitteilung

Das Resultat wird in der für die beschriebenen qualitativen und semiquantitativen Tests üblichen Weise unter Angabe des auslösenden Medikaments und ggf. des Glykoproteins mitgeteilt, mit dem der medikamentabhängige Antikörper reagiert. Bei eindeutigen Befunden sollte eine Empfehlung zur Vermeidung der auslösenden Substanz abgegeben werden.

## 60.5 Untersuchungsmaterial zum Nachweis von Antikörpern gegen Thrombozyten

Freie thrombozytäre Antikörper können in Serumproben oder in Plasma bestimmt werden, das aus mit EDTA antikoagulierten Blutproben gewonnen wurde. Zur Bestimmung von GP-PAIgG werden Thrombozyten aus mit EDTA antikoagulierten Blutproben durch Differenzialzentrifugation isoliert. Bei thrombozytopenischen Patienten werden hierzu mindestens Probenvolumina von mindestens 10 ml benötigt.

## Literatur

Bertrand G, Jallu V, Gouet M, Kjaer KM, Lambin P, Husebekk A, Kaplan C (2005) Quantification of human platelet antigen-1a antibodies with the monoclonal antibody immobilization of platelet antigens procedure. Transfusion 45: 1319–1323

George JN, Chong B, Li X (2006) Drug-induced thrombocytopenia. In: Colman EW, Marder VJ, Clowes AW, George JN, Goldhaber SZ (eds) Hemostasis and thrombosis, 5. ed. Philadelphia: Lippincott Wiliams and Wilkins, p 1095–1102

Kiefel V, Santoso S (2004) Nachweis von thrombozytären Antikörpern und Antigenen. In: Mueller-Eckhardt C, Kiefel V (Hrsg) Transfusionsmedizin – Grundlagen, Therapie, Methodik, 3. Aufl. Heidelberg: Springer, S 665–645

Kiefel V, Freitag E, Kroll H, Santoso S, Mueller-Eckhardt C (1996) Platelet autoantibodies (IgG, IgM, IgA) against glycoproteins IIb/IIIa and

Ib/IX in patients with thrombocytopenia. Ann Hematol 72: 280–285
Kiefel V (1992) The MAIPA assay and its applications in immunohematology. Transfus Med 2: 181–188
Kiefel V, Santoso S, Schmidt S, Salama A, Mueller-Eckhardt C (1987a) Metabolite-specific (IgG) and drug-specific antibodies (IgG, IgM) in two cases of trimethoprim-sulfamethoxazole-induced immune thrombocytopenia. Transfusion 27: 262–265
Kiefel V, Santoso S, Weisheit M, Mueller-Eckhardt C (1987b) Monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens (MAIPA): a new tool for the identification of platelet reactive antibodies. Blood 70: 1722–1726
McMillan R, Tani P, Millard F, Berchtold P, Renshaw L, Woods VL (1987) Platelet-associated and plasma anti-glycoprotein autoantibodies in chronic ITP. Blood 70: 1040–1045
Schneider W, Schnaidt M (1981) The platelet adhesion immunofluorescence test: a modification of the platelet suspension immunofluorescence test. Blut 43: 389–392
von dem Borne AEGK, Verheugt FWA, Oosterhof F, von Riesz E, Brutel de la Riviere A, Engelfriet CP (1978) A simple immunofluorescence test for the detection of platelet antibodies. Br J Haematol 39: 195–207

# 61 HIT-Diagnostik

*N. Lubenow, A. Greinacher*



## Einleitung

> Die heparininduzierte Thrombozytopenie (HIT) ist eine immunologisch bedingte unerwünschte Arzneimittelwirkung. Die Labordiagnostik bei klinischem Verdacht auf eine HIT hat ihre Stärke im Ausschluss von HIT-Antikörpern (hoher negativ prädiktiver Wert). Die Aussagekraft eines positiven Antikörpertests (positiv prädiktiver Wert) hängt stark vom verwendeten Verfahren ab.

### Indikationen

Die Indikation zum Ausschluss einer HIT ist gegeben, wenn zwischen Tag 5 und 14 einer Heparingabe in prophylaktischer oder therapeutischer Dosierung und ohne andere plausible Erklärung die Thrombozytenwerte um >50% abfallen und/oder neue thromboembolische Komplikationen auftreten (▶ Kap. 31.1.3). Bei Reexposition mit Heparin innerhalb von 3 Monaten ist die Indikation gegeben, wenn diese Symptome am ersten Tag der Heparingabe auftreten. Bei geringer klinischer Wahrscheinlichkeit (z. B. bei Verwendung eines Scores) oder bei Fehlen von Symptomen sollten HIT-Antikörpertests nur in klinischen Studien durchgeführt werden.

**! HIT-Antikörper sind nur wenige Wochen nach akuter HIT nachweisbar. Ab 3 Monate nach akuter HIT ist ein Labortest zum Nachweis der Antikörper in der Regel nicht sinnvoll.**

### Testprinzip

Die Testverfahren weisen die Bindung von Antikörpern im ELISA oder im Agglutinationstest (Antigentest) bzw. die Thrombozytenaktivierung durch Patientenserum in Abhängigkeit von Heparin (Funktionstest) nach.

#### Antigentests

Antigentests weisen die Bindung von Antikörpern an Plättchenfaktor-4-Heparin-Komplexe nach. Bei allen Antigentests ist die Qualität des eingesetzten PF4 (Tetramerstruktur) entscheidend für die Sensitivität des Verfahrens.



**ELISA.** Antigentests nach dem ELISA-Prinzip sind sehr sensitiv für den Nachweis von Antikörpern, die an PF4-Heparin-Komplexe (Amiral et al. 1992) oder PF4-Polyvinylsulfat (Visentin et al. 2001) binden. Es wird sowohl rekombinanter als auch aus Thrombozyten gewonnener humaner PF4 verwendet.

Nach Inkubation mit Patientenserum wird die Antikörperbindung durch Sekundärantikörper nachgewiesen. Testverfahren, die nur IgG-Antikörper nachweisen, haben bei kaum reduzierter Sensitivität einen höheren positiv prädiktiven Wert für eine klinische HIT als Testverfahren, die IgG-, IgM- und IgA-Antikörper nachweisen (Greinacher et al. 2007). Antikörper gegen andere (seltene) HIT-Antigene, wie Il-8-Heparin oder NAP-2-Heparin können mit PF4-basierten Tests nicht nachgewiesen werden.

**Partikel-Gel-Immunoassay.** Der Partikel-Gel-Immunoassay (Meyer et al. 1999; Eichler et al. 2002) verwendet mit PF4-Heparin-Komplexen beladene Polystyrenpartikel. Die Anti-PF4-Heparin-Antikörper im Patientenserum agglutinieren diese Partikel. Dies wird, analog zu Nachweisverfahren in der Blutgruppenserologie, in einem Mikrosäulenzentrifugationssystem sichtbar gemacht. Der Test unterscheidet nicht zwischen IgG-, IgM- und IgA-Antikörpern.

**Partikel-Flow-Immunoassay (PIFA).** In diesem Bedside-Test werden PF4-beschichtete Polystyrenpartikel mit Patientenserum inkubiert und die Agglutination in einem Membransystem sichtbar gemacht.

#### Funktionstests

Funktionstests weisen die HIT-Antikörper-vermittelte Aktivierung der Thrombozyten gesunder Spender nach. Diese Aktivierung ist FcγIIa-Rezeptor-vermittelt, deshalb können nur IgG-Antikörper nachgewiesen werden. Im Gegensatz zu den Antigentests können auch Antikörper gegen andere seltene HIT-Antigene wie IL-8-Heparin oder NAP-2-Heparin nachgewiesen werden. Die sensitiven Funktionstests erfordern gewaschene Thrombozyten. Sie sind technisch anspruchsvoll und benötigen entsprechende Kontrollen mit schwach positiv sowie negativ reagierenden Seren (Eichler et al. et al. 1999).

**Aggregationstest.** Beim Aggregationstest werden plättchenreiches Plasma eines gesunden Probanden, Patientenserum und Heparin unter Rühren im Aggregometer inkubiert. Liegen HIT-Antikörper vor, kommt es nach ca. 5–10 min zur Thrombozytenaggregation. Der Test ist zum einen wenig sensitiv, zum anderen zeigt er insbesondere bei schwer kranken Patienten häufiger auch falsch-positive Resultate. Eine Standardisierung ist schwierig.

**! Aggregationstests unter Verwendung von plättchenreichem Plasma sollten zum Nachweis von HIT-Antikörpern nicht mehr verwendet werden.**

**Serotoninfreisetzungstest und heparininduzierter Plättchenaktivierungstest.** Sowohl der Serotoninfreisetzungs-

test (Serotonin-Release-Assay, SRA) als auch der heparininduzierte Plättchenaktivierungstest (HIPA-Test) verwendet gewaschene Plättchen, die mit Patientenserum und Heparin in verschiedenen Konzentrationen in einer Mikrotiterplatte inkubiert werden. Die Proben werden dabei durch Stahlkügelchen auf einem Magnetrührer gerührt. Typisch für die HIT ist eine Thrombozytenaktivierung bei niedrigen (0,2 U/ml), aber nicht bei hohen (100 U/ml) Heparinkonzentrationen. Beide Tests erlauben die Untersuchung auf Kreuzreaktivität der Antikörper mit anderen Medikamenten. Ein großer Vorteil der Verfahren ist, dass eine Vielzahl von Kontrollen mitgeführt werden können (z. B. Zugabe von Hirudin, um Thrombineffekte auszuschließen, Hemmung des FcRIIa-Rezeptors durch monoklonale Antikörper).

Im HIPA-Test (Greinacher et al. 1991) wird die Aktivierung der Thrombozyten visuell auf der Mikrotiterplatte abgelesen. Beim SRA (Sheridan et al. 1986) werden die Thrombozyten initial radioaktiv mit $^{14}C$-Serotonin markiert. Die während der nachfolgenden Aktivierung wieder freigesetzte Radioaktivität im Überstand wird gemessen. Die für die Arbeit mit Radioaktivität notwendige Logistik schränkt die Eignung des SRA für die Routinediagnostik ein. Beide Tests haben derzeit das beste Verhältnis von Sensitivität zu Spezifität und gelten als Bestätigungstests der HIT. Sie sind jedoch technisch aufwendig und sollten nur von erfahrenen Laboratorien für die Patientendiagnostik angeboten werden (Warkentin et al. 2007a).

### Messgröße

#### Antigentests

Beim ELISA erfolgt die Auswertung im Photometer nach Substratumsatz durch den markierten Sekundärantikörper. Beim Partikel-Gel-Immunoassay erfolgt eine optische Bewertung nach Agglutinationsstärke. Zusätzlich ist eine semiquantitative Bewertung durch serielle Ausverdünnung des Patientenserums möglich.

#### Funktionstests

Im SRA wird die Freisetzung von radioaktivem Serotonin nach Inkubation mit HIT-Antikörpern gemessen, sie verhält sich proportional zur Thrombozytenaktivierung. Im HIPA-Test wird die Aktivierung der Plättchen visuell auf der Mikrotiterplatte abgelesen.

Daneben kann bei gleich präparierten Thrombozyten und gleichem Testansatz die Thrombozytenaktivierung durch die Generierung von Mikropartikeln, die Messung von Serotonin im ELISA, die Freisetzung von ADP durch die Thrombozyten oder die Bindung von Annexin V gemessen werden. Vor- und Nachteile dieser Modifikationen unterscheiden sich aber nicht vom Serotoninfreisetzungstest oder vom HIPA-Test.

### Befundmitteilung

Bei allen Testverfahren korreliert die Stärke der Reaktion im Test direkt mit der Wahrscheinlichkeit für eine HIT. Das Ergebnis sollte daher nicht nur als positiv/negativ, sondern zusätzlich (semi)quantitativ mitgeteilt werden. Reaktionen mit einer optischen Dichte (OD) im ELISA <1 sind selten mit einer klinisch relevanten HIT assoziiert.

**! Die zügige Befundmitteilung der HIT-Antikörpertestung ist kritisch. Sie sollte unmittelbar nach Fertigstellung des Befunds telefonisch bzw. per Fax erfolgen.**

### Untersuchungsmaterial

Die ELISA-Tests können in Abhängigkeit von den Spezifikationen der Hersteller mit Plasma oder Serum durchgeführt werden. Der Antikörpernachweis ist bis 72 h nach Entnahme der Proben möglich. Der Partikel-Gel-Immunoassay sollte mit Serum durchgeführt werden, da Fibringerinnsel aus einer Plasmaprobe falsch-positive Ergebnisse vortäuschen können.

Für die Funktionstests sollte Patientenserum verwendet werden. EDTA-Plasma ist ungeeignet, da EDTA die Thrombozytenfunktion hemmt. Der Antikörpernachweis ist bis 72 h nach Entnahme der Proben möglich. Die Proben werden vor Durchführung des Tests hitzeinaktiviert, um eine thrombin- oder komplementinduzierte Plättchenaktivierung im Testansatz zu verhindern.

### Referenzbereich

#### Antigentests

Bei den kommerziellen ELISA-Tests wird ein feststehender Cut-off-Wert angegeben bzw. eine Berechnung aus mitgeliefertem positivem Kontrollmaterial durchgeführt. Beim Partikel-Gel-Immunoassay erfolgt eine qualitative visuelle Auswertung, positives Kontrollmaterial ist Teil des Testkits. Schwache Agglutinationen sind in der Regel nicht mit einer klinisch relevanten HIT assoziiert.

#### Funktionstests

Um bei der biologischen Variabilität der Tests eine Redundanz zu gewährleisten, werden Thrombozytenpräparationen mehrer gesunder Spender (üblicherweise 4) verwendet. Die Tests werden als positiv bewertet, wenn bei mehr als 2 von 4 Spenderthrombozyten eine Aktivierung bei niedriger Heparinkonzentration innerhalb von 30 min (HIPA) bzw. eine Serotoninfreisetzung von >20% (SRA) auftritt.

### Bewertung

Grundsätzlich sollten alle sogenannten »HIT-Tests« unter Berücksichtigung des klinischen Verlaufs beurteilt werden. Die Stärke der kommerziellen Testverfahren zum Nachweis von Anti-PF4-Heparin-Antikörpern liegt im Ausschluss

einer HIT. Der negativ prädiktive Wert liegt bei ca. 99% (Greinacher et al. 2007). In den wenigen Fällen mit starkem Verdacht auf eine HIT trotz negativem Antigentest sollte ein Funktionstest durchgeführt werden zum Nachweis von heparinabhängigen Antikörpern gegen andere Antigene als PF4-Heparin.

Der positiv prädiktive Wert für eine klinische HIT ist bei den Antigentests gering, insbesondere wenn diese neben IgG- auch IgM- und IgA-Antikörper nachweisen (Warkentin et al. 2005). Bei positivem Antigentest sollte im zweiten Schritt auch ein Funktionstest durchgeführt werden. Nur wenn beide Tests positiv sind, ist eine HIT wahrscheinlich.

Der Säulenagglutinationstest ist bei schwachen Reaktionen für den Ungeübten oft schwer zu beurteilen, selten werden falsch-negative Reaktionen beobachtet, die in diesem Test negativ, in den ELISA-Tests und den Funktionstests jedoch positiv sind. Sein großer Vorteil liegt in der schnellen Abarbeitung.

Der PIFA-Test, der als Bedside-Test angeboten wird, kann derzeit aufgrund seiner geringen Spezifität und Sensitivität nicht empfohlen werden (Warkentin et al. 2007b).

## Literatur

Amiral J, Bridey F, Dreyfus M, Vissoc AM, Fressinaud E, Wolf M, Meyer D (1992) Platelet factor 4 complexed to heparin is the target for antibodies generated in heparin-induced thrombocytopenia. Thromb Haemost 68: 95–6

Eichler P, Raschke R, Lubenow N, Meyer O, Schwind P, Greinacher A (2002) The new ID-heparin/PF4 antibody test for rapid detection of heparin-induced antibodies in comparison with functional and antigenic assays. Br J Haematol 116: 887–91

Eichler P, Budde U, Haas S et al. (1999) First workshop for detection of heparin-induced antibodies: validation of the heparin-induced platelet-activation test (HIPA) in comparison with a PF4/heparin ELISA. Thromb Haemost 81: 625–9

Greinacher A, Juhl D, Strobel U, Wessel A, Lubenow N, Selleng K, Eichler P, Warkentin TE (2007) Heparin-induced thrombocytopenia: a prospective study on the incidence, platelet-activating capacity and clinical significance of anti-PF4/heparin antibodies of the IgG, IgM, and IgA classes. T Thromb Haemost 5(2): 235-41

Greinacher A, Michels I, Kiefel V, Mueller-Eckhardt C (1991) A rapid and sensitive test for diagnosing heparin-associated thrombocytopenia. Thromb Haemost 66: 734–6

Meyer O, Salama A, Pittet N, Schwind P (1999) Rapid detection of heparin-induced platelet antibodies with particle gel immunoassay (ID-HPF4). Lancet 354: 1525–6

Sheridan D, Carter C, Kelton JG (1986) A diagnostic test for heparin-induced thrombocytopenia. Blood 67: 27–30

Visentin GP, Moghaddam M, Beery SE, McFarland JG, Aster RH (2001) Heparin is not required for detection of antibodies associated with heparin-induced thrombocytopenia/thrombosis. J Lab Clin Med 138: 22–31

Warkentin TE, Greinacher A (2007a) Laboratory testing for heparin-induced thrombocytopenia. In: Warkentin TE, Greinacher A (eds) Heparin-induced thrombocytopenia, 4th ed. New York: Marcel Dekker, p 227–260

Warkentin TE, Sheppard JI, Raschke R, Greinacher A (2007b) Performance characteristics of a rapid assay for anti-PF4/heparin antibodies, the particle immunofiltration assay. J Thromb Haemost 5(11): 2308–10

Warkentin TE, Sheppard JA, Moore JC, Moore KM, Sigouin CS, Kelton JG (2005) Laboratory testing for the antibodies that cause heparin-induced thrombocytopenia: how much class do we need? Lab Clin Med 146: 341–6

61

# 62 Globaltests und Einzelfaktoren

*B. Pötzsch, K. Madlener*



## Einleitung

Die Globaltests bilden zusammen mit der Einzelfaktorbestimmung die Basis der plasmatischen Gerinnungsanalytik. Globaltests sind klassische Screeningtests, da sie die Aktivität von verschiedenen Gerinnungsfaktoren gleichzeitig erfassen, während in der Einzelfaktorbestimmung die Aktivität eines Gerinnungsfaktors bestimmt wird.

## 62.1 Thromboplastinzeit (Quick-Wert)

### Indikationen

Die Thromboplastinzeit (TPZ, engl. »prothrombin time«) erfasst die Aktivität der Faktoren VII, X, V und II sowie die Konzentration des gerinnbaren Fibrinogens. Dies ermöglicht ihren Einsatz als Screeningparameter in der Diagnostik einer plasmatischen Gerinnungsstörung und zur Überwachung einer Therapie mit Vitamin-K-Antagonisten. In der Regel wird die Thromboplastinzeitbestimmung mit der Bestimmung der APTT (aktivierte partielle Thromboplastinzeit) kombiniert, um eine erste differenzialdiagnostische Abgrenzung vorzunehmen (Abb. 62.1). Im Fall von pathologischen Werten erfolgt eine weitere Abklärung durch die Einzelfaktorenanalyse.

### Testprinzip

Zur Bestimmung der TPZ, die erstmalig von Quick 1935 beschrieben wurde (Quick et al. 1935), wird Zitratplasma mit Gewebsthromboplastin (Tissue Factor, TF) versetzt. Dieses bildet mit dem im Plasma vorhandenen Faktor VIIa den extrinsischen Aktivierungskomplex. Über die FVIIa-TF-vermittelte Aktivierung von Faktor X erfolgt anschließend die Thrombingenerierung und Fibrinbildung.

Es werden verschiedene Reagenzien angeboten, die entweder ein rekombinant hergestelltes Thromboplastin oder ein aus TF-reichen Organen (z. B. Plazenta) aufgereinigtes Thromboplastin enthalten. Tissue Factor ist ein Lipoprotein, dessen Aktivität wesentlich von der Lipidkomponente beeinflusst wird. Deswegen werden den rekombinant hergestellten Thromboplastinen Phospholipide zugesetzt, die meist pflanzlichen Ursprungs sind (Smith et al. 2006). Zur Bestimmung der Thromboplastinzeit wird das Plasma vorgelegt und der Gerinnungsprozess durch eine Mischung aus Thromboplastinreagenz und Kalziumchlorid gestartet.

Eine Bestimmung der Thromboplastinzeit ist in analoger Weise auch mit Vollblut möglich und wird als Point-of-Care-Diagnostik eingesetzt. Die Detektion des Gerinnungsprozesses erfolgt dann mechanisch (Moore et al. 2007).

### Messgröße

Messgröße ist die Zeit in Sekunden zwischen der Zugabe des TF-Reagens und der Gerinnselbildung.

### Befundmitteilung

In deutschsprachigen Ländern wird die Thromboplastinzeit in den Quick-Wert umgerechnet. Eine Standardkurve wird durch serielle Ausverdünnung eines Standardnormalplasmas erstellt. Anhand dieser Kalibrationskurve werden

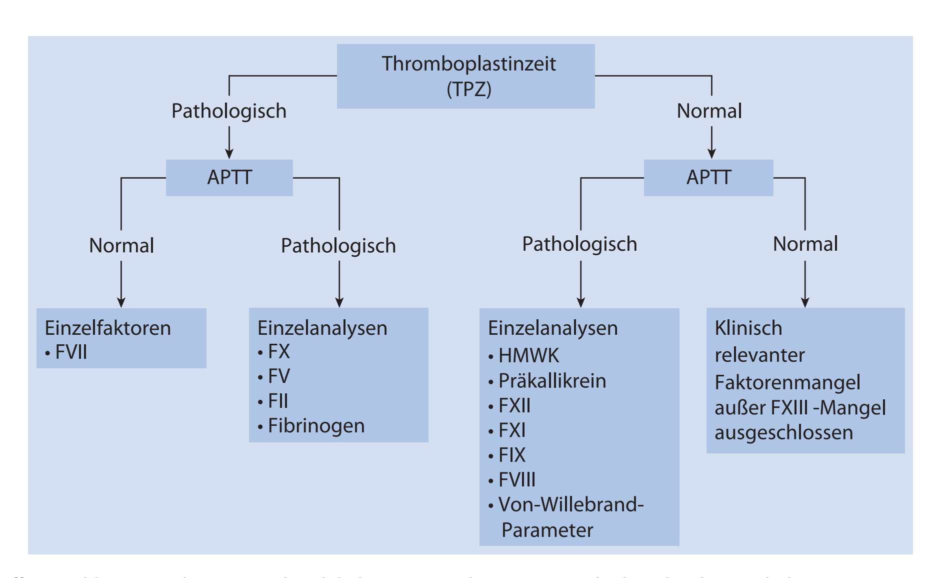



**Abb. 62.1.** Differenzialdiagnostischer Einsatz der Globaltests TPZ und APTT. *HMWK* »high molecular weight kininogen«

62

die Gerinnungszeiten in die prozentualen Quick-Werte übertragen. In den übrigen Ländern erfolgt die Angabe der Thromboplastinzeit in Sekunden. Eine alternative Befunddarstellung ist durch Bestimmung der TPZ-Ratio möglich. Hier wird der Patientenmesswert durch den Mittelwert eines Normalkollektivs geteilt.

Aus der TPZ-Ratio wird die »international normalized ratio« (INR) berechnet, indem die TPZ-Ratio mit einem Korrekturfaktor, dem »international sensitivity index« (ISI), potenziert wird. Der ISI-Wert berücksichtigt den Einfluss unterschiedlicher Thromboplastine und unterschiedlicher Geräte auf die TPZ-Bestimmung (van den Besselaar et al. 2004). Er wird durch Vergleichsmessungen mit einem WHO-Standard ermittelt und von den Reagenzienherstellern ausgewiesen. Von verschiedenen Herstellern werden darüber hinaus Kits vertrieben, die eine Ermittlung des ISI-Werts ermöglichen (Poller et al. 2007).

**! Die INR-Bestimmung wurde zur Überwachung von oral antikoagulierten Patienten optimiert und wird in dieser Indikation heute weltweit eingesetzt. Thromboplastinwerte bei nicht oral antikoagulierten Patienten werden weiterhin als Quick-Wert oder Thromboplastinzeit ausgedrückt.**

### Untersuchungsmaterial

Im Labor ist die Bestimmung aus Zitratplasma üblich, Point-of-Care-Geräte verwenden Vollblut.

### Störgrößen

Grundsätzlich wird die Thromboplastinzeit durch alle Medikamente verlängert, die die Aktivität eines der TPZ-sensitiven Einzelfaktoren herabsetzen, wie dies z. B. bei direkten Thrombininhibitoren der Fall ist. Die TPZ wird auch durch Heparin beeinflusst. In kommerziellen Testkits wird durch Zugabe des Heparinneutralisators Polybren Heparin bis zu einer Konzentration von 1 E/ml neutralisiert.

Eine weitere Störgröße bilden Lupusantikoagulanzien, die durch Inhibition der Phospholipidkomponente zu einer Verlängerung der TPZ führen. In seltenen Fällen können Lupusantikoagulanzien ausschließlich mit der pflanzlichen Phospholipidkomponente von rekombinanten Thromboplastinen reagieren, ohne dass eine klinische Relevanz dieser Antikörper vorliegt. Ein isoliert verminderter Quick-Wert, der nicht mit der Einnahme eines Medikaments oder einer Einzelfaktorenverminderung erklärt werden kann, sollte deswegen durch Bestimmung der Thromboplastinzeit mit einem nicht rekombinanten Thromboplastinreagens kontrolliert werden.

### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

Die Referenzbereiche werden von den Reagenzienherstellern ermittelt und können in der Regel übernommen werden. Im Bedarfsfall ist eine Ermittlung des Referenzintervalls durch Bestimmung von Plasmaproben von einem gesunden Spenderkollektiv möglich.

In den Richtlinien der Bundesärztekammer zur Durchführung von quantitativen laboranalytischen Untersuchungen sind die maximal tolerierbaren Messwertabweichungen für die Thromboplastinzeit definiert. Außerdem ist die Teilnahme an externen Ringversuchen vorgeschrieben (Spannagl et al. 2007).

### Bewertung

Ein unterhalb des Referenzbereichs liegender Quick-Wert ist hinweisend auf das Vorliegen eines isolierten oder kombinierten Einzelfaktorenmangels. Eine Bewertung der Blutungsgefährdung ist durch Bestimmung des Quick-Werts alleine nicht möglich. Hier ist der zugrunde liegende Einzelfaktorenmangel und die Anamnese maßgeblich.

Eine Ausnahme bilden Patienten mit Lupusantikoagulanzien. Hier ist der verminderte Quick-Wert nicht Ausdruck eines Faktorenmangels, sondern Folge der Kompetition der Gerinnungsfaktoren mit den Antiphospholipidantikörpern um die Phospholipidbindungsstellen (Rolla et al. 2007).

**! Für die orale Antikoagulation sind indikationsspezifische INR-Bereiche definiert. Bei Unterschreiten dieser Bereiche besteht ein erhöhtes Thromboserisiko, bei Überschreiten ein erhöhtes Blutungsrisiko.**

## 62.2 Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (APTT)

### Indikationen

Die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (APTT) erfasst die Aktivität der Kontaktfaktoren Präkallikrein, hochmolekulares Kininogen und Faktor XII sowie der Faktoren XI, IX, VIII, X, V und II sowie die Konzentration des gerinnbaren Fibrinogens. Dies ermöglicht ihren Einsatz als Screeningparameter in der Diagnostik einer plasmatischen Gerinnungsstörung und zur Überwachung einer Therapie mit unfraktioniertem Heparin und anderen APTT-wirksamen Antikoagulanzien. Dazu zählen die direkten Thrombininhibitoren. In der Regel wird die APTT mit der Bestimmung der TPZ kombiniert, um eine erste differenzialdiagnostische Abgrenzung vorzunehmen (Abb. 62.1). Im Fall von pathologischen Werten erfolgt eine weitere Abklärung durch die Einzelfaktorenanalyse.

### Testprinzip

Die Bestimmung der APTT basiert auf der Fähigkeit des Kontaktfaktorensystems zur Gerinnungsaktivierung. Durch die Zugabe von Oberflächenaktivatoren, wie z. B. Kaolin, Kephalin oder Sialin, werden die Kontaktfaktoren

Präkallikrein, hochmolekulares Kininogen und Faktor XII aktiviert. Nach anschließender Rekalzifizierung der Plasmaprobe aktiviert Faktor XIIa den Faktor XI, der über die Bildung des Tenasekomplexes zur Thrombinbildung und Fibrinbildung führt (Langdell et al. 1953).

Es werden verschiedene Reagenzien angeboten, die sich in der Art des Oberflächenaktivators und der Phospholipidzusammensetzung unterscheiden. Die Bestimmung der APTT ist ein Zweistufentest. In einem ersten Schritt wird das Plasma mit dem Oberflächenaktivator inkubiert und anschließend durch Zugabe von Kalzium der Gerinnungsvorgang gestartet.

Eine Bestimmung der APTT ist in analoger Weise auch mit Vollblut möglich und wird als Point-of-Care-Diagnostik eingesetzt. Die Detektion des Gerinnungsprozesses erfolgt dann mechanisch.

#### Messgröße und Befundmitteilung

Messgröße ist die Zeit in Sekunden zwischen der Zugabe des Kalziums und der Gerinnselbildung. Die Befundmitteilung erfolgt in Sekunden.

#### Untersuchungsmaterial

Im Labor ist die Bestimmung aus Zitratplasma üblich, Point-of-Care-Geräte verwenden Vollblut.

#### Störgrößen

Grundsätzlich wird die APTT durch alle Medikamente verlängert, die die Aktivität eines der APTT-sensitiven Einzelfaktoren herabsetzen, wie dies z. B. bei Heparin oder direkten Thrombininhibitoren der Fall ist.

#### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

Die Referenzbereiche, die meist in einer Größenordnung zwischen 20 und 40 s liegen, werden von den Reagenzienherstellern ermittelt und können in der Regel übernommen werden. Im Bedarfsfall ist eine Ermittlung des Referenzintervalls durch Bestimmung von Plasmaproben von einem gesunden Spenderkollektiv möglich.

In den Richtlinien der Bundesärztekammer zur Durchführung von quantitativen laboranalytischen Untersuchungen sind die maximal tolerierbaren Messwertabweichungen für die APTT definiert. Außerdem ist die Teilnahme an externen Ringversuchen vorgeschrieben.

#### Bewertung

Eine verlängerte APTT ist hinweisend auf das Vorliegen eines isolierten oder kombinierten Einzelfaktorenmangels. Zur weiteren differenzialdiagnostischen Abklärung ist eine Einzelfaktorenbestimmung erforderlich. Antiphospholipidantikörper können ebenfalls eine verlängerte APTT induzieren. Auch hier ist eine differenzialdiagnostische Abklärung notwendig.

Die Therapiesteuerung von APTT-wirksamen Medikamenten erfolgt anhand von definierten Zielwertkorridoren.

## 62.3 Thrombinzeit und Reptilasezeit

#### Indikationen

Eine gesicherte Indikation zur Durchführung der Thrombinzeit bzw. der Reptilasezeit besteht nicht. Aufgrund ihrer Heparinempfindlichkeit wurde die Thrombinzeit früher zur Kontrolle einer Therapie mit unfraktioniertem Heparin eingesetzt. Inzwischen ist sie in dieser Indikation durch die besser geeignete APTT ersetzt worden.

In Kombination mit der Reptilasezeit können mit der Thrombinzeit Fibrin- und Fibrinogenspaltprodukte indirekt nachgewiesen werden. Die klinische Relevanz dieser Untersuchung konnte bisher nicht belegt werden. Auch in der Diagnostik der Hypo- und Dysfibrinogenämie ist der Stellenwert aufgrund der Verfügbarkeit der funktionellen und immunologischen Fibrinogenbestimmung eingeschränkt.

#### Testprinzip

Thrombinzeit und Reptilasezeit sind koagulometrische Testmethoden, bei denen das im Plasma vorhandene Fibrinogen zur Gerinnung gebracht wird. Während Thrombin durch Antithrombin in Anwesenheit von unfraktioniertem Heparin oder einem direkten Thrombininhibitor inhibiert wird, kann das Schlangengift Reptilase durch diese Einflussfaktoren nicht in seiner Aktivität beeinträchtigt werden.

Die Fibrinpolymerisation wird durch Fibrinogen- und Fibrinspaltprodukte konzentrationsabhängig gestört. Dies führt bei Vorliegen von Spaltprodukten zu einer Verlängerung von beiden Gerinnungstests.

#### Messgröße und Befundmitteilung

Der Plasmaprobe wird das Thrombinreagenz oder das Reptilasereagenz zugesetzt und die Zeit bis zur Ausbildung eines Gerinnsels gemessen. Die Befundmitteilung erfolgt in Sekunden.

#### Untersuchungsmaterial

Die Bestimmung erfolgt mit Zitratplasma.

#### Störgrößen

Die Thrombinzeit wird durch indirekte oder direkte Thrombininhibitoren verlängert und durch Substanzen, die die Fibrinpolymerisation stören, wie z. B. Hydroxyethylstärke (HAES). Letzteres gilt auch für die Reptilasezeit.

#### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

Die Referenzbereiche werden von den Reagenzienherstellern ermittelt und können in der Regel übernommen wer-

den. Im Bedarfsfall ist eine Ermittlung des Referenzintervalls durch Bestimmung von Plasmaproben von einem gesunden Spenderkollektiv möglich.

## 62.4 Einzelfaktorenanalyse

### Indikationen

Die Einzelfaktorenanalyse bestimmt die Aktivität eines einzelnen Gerinnungsfaktors und wird in der differenzialdiagnostischen Abklärung von pathologischen Globaltests bei Verdacht auf das Vorliegen einer hämorrhagischen Diathese eingesetzt. Einzige Ausnahme ist die Faktor-XIII-Aktivitätsbestimmung, da die Faktor-XIII-Aktivität durch die Globaltests nicht erfasst wird.

Unabhängig von dem APTT-Wert ist die FVIII-Aktivitätsbestimmung Bestandteil der Von-Willebrand-Analytik (▶ Kap. 64). Werden Patienten mit Gerinnungsfaktorenkonzentraten behandelt, ist die Einzelfaktoranalytik ein geeigneter Parameter zur Therapiekontrolle.

Für die Faktoren VIII, IX und XI wurde gezeigt, dass erhöhte Aktivitäten einen eigenständigen thrombophilen Risikofaktor darstellen. Deswegen kann die Einzelfaktoranalytik auch Bestandteil der Thrombophiliediagnostik sein. Weitere Indikationen für die Einzelfaktoranalytik sind die Diagnostik und Verlaufskontrolle von komplexen Gerinnungsstörungen, wie z. B. die disseminierte intravasale Gerinnung.

### Testprinzip

Die Bestimmung der Einzelfaktoren kann koagulometrisch oder amidolytisch erfolgen. Zur koagulometrischen Bestimmung wird das Patientenplasma mit einem Mangelplasma versetzt, das alle Faktoren bis auf den zu untersuchenden Faktor in ausreichender Konzentration enthält. Dadurch wird erreicht, dass der zu bestimmende Faktor für die anschließende Gerinnungsreaktion zur limitierenden Größe wird.

Die amidolytische Methode erfordert nicht den Einsatz eines Mangelplasmas. Hier wird die Spezifität der Reaktion durch Einsatz eines Peptidsubstrats erzielt, das die Sequenz des natürlichen Substrats enthält und durch das Enzym gespalten werden kann. Die Bestimmung der Kofaktoren, die selbst keine Enzymaktivität besitzen, ist amidolytisch nur indirekt über das Produkt des korrespondierenden Enzyms möglich.

Im Vergleich mit der koagulometrischen Messung, die eine Endpunktmethode darstellt, hat die amidolytische Bestimmung den Vorteil, dass sie auch kinetische Bestimmungen erlaubt. Sie hat meist den Nachteil einer geringeren Spezifität, da das minimalisierte Peptidmotiv die Enzym-Substrat-Spezifität nicht komplett abbilden kann.

Einem etwas anderen Prinzip folgt die amidolytische Faktor-XIII-Bestimmung. Faktor XIII katalysiert die Ausbildung einer Peptidbindung zwischen den Aminosäuren Glutamin und Lysin. Dabei wird im equimolaren Verhältnis Ammoniak freigesetzt. Die FXIII-Aktivität kann indirekt über die Menge des gebildeten Ammoniaks gemessen werden oder über die Einbaurate eines markierten Substrats.

### Testdurchführung

In der koagulometrischen Methode wird das Patientenplasma mit Mangelplasma in einem definierten Verhältnis gemischt und nach einer kurzen Inkubationszeit bei 37°C die Gerinnungszeit mit der APTT oder Thromboplastinzeit bestimmt. Die Wahl der Methode ist davon abhängig, ob es sich um einen TPZ- oder APTT-sensitiven Gerinnungsfaktor handelt. Eine Standardkurve wird mit einem seriell ausverdünnten Standardnormalplasma ermittelt, dessen Einzelfaktoraktivitäten durch Abgleich mit einem WHO-Standard ermittelt wurden.

Die Messung der amidolytischen Reaktionen erfolgt fotometrisch. Die meisten modernen Gerinnungsautomaten verfügen über diese Funktion. Alternativ können die Testreaktionen im Mikrotiterplattenformat durchgeführt werden.

### Messgröße und Befundmitteilung

Die Gerinnungszeiten oder die Hydrolyserate des Peptidsubstrats werden anhand der Standardkurve in prozentuale Aktivitätswerte umgerechnet.

### Untersuchungsmaterial

Das Untersuchungsmaterial zur Bestimmung der Einzelfaktoraktivität ist Zitratplasma.

### Störgrößen

Die Einzelfaktorenanalyse erfolgt auf der Basis der APTT oder der Thromboplastinzeit. Daher ist die Einzelfaktorenanalytik für die gleichen Störgrößen wie die APTT und die Thromboplastinzeit anfällig. In ◘ Tab. 62.1 sind maximale Probenlagerungszeiten und Medikamente, die das Messergebnis beeinflussen, zusammengefasst.

### Referenzbereiche und Qualitätskontrolle

Für jeden einzelnen Gerinnungsfaktor wird ein gesonderter Referenzbereich erstellt. Die Qualitätssicherung erfolgt mit einem Kontrollprobensystem und durch die Teilnahme an externen Ringversuchen.

### Bewertung

Eine erniedrigt gemessene Einzelfaktoraktivität ist nicht gleichbedeutend mit dem Vorliegen eines klinisch relevanten Faktorenmangels. Die klinische Relevanz kann erst in Zusammenhang mit dem klinischen Bild und den anamnestischen Angaben beurteilt werden. Einzelfaktorenwerte über 50% sind fast nie mit einem klinisch relevanten Faktorenmangel verbunden.

**Tab. 62.1.** Maximale Lagerungszeiten und weitere spezifische Störgrößen der Einzelfaktorenanalytik

| Testverfahren | Max. Lagerungszeiten[b] [h] | Störgrößen | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | UFH | LMWH in therap. Dosis | OAK | Direkte Thrombininhibitoren | Direkte FXa-Inhibitoren | HAES | Aprotinin | APA | FVIII-Inhibitoren |
| APTT | 48 | +[a] | – | (+) | +[a] | +[a] | + | + | + | + |
| TPZ | 48 | – | – | +[a] | + | + | – | – | + | – |
| Thrombinzeit | 48 | + | – | – | + | – | + | – | – | – |
| Reptilasezeit | 48 | – | – | – | – | – | ? | – | – | – |
| HMWK | 24 | + | – | – | + | + | + | + | + | + |
| Präkallikrein | 24 | + | – | – | + | + | + | + | + | + |
| Faktor XII | 24 | + | – | – | + | + | + | + | + | + |
| Faktor XI | 24 | + | – | – | + | + | – | – | + | + |
| Faktor IX | 24 | + | – | +[a] | + | + | – | – | + | + |
| Faktor VIII | 12 | ++ | – | – | + | + | + | + | + | +[a] |
| Faktor VII | 12 | – | – | +[a] | + | + | – | – | + | – |
| Faktor X | 24 | – | – | +[a] | + | + | – | – | + | – |
| Faktor V | 24 | – | – | – | + | + | – | – | + | – |
| Faktor II | 24 | – | – | +[a] | + | – | – | – | + | – |
| Fibrinogen | 48 | – | – | – | + | – | + | – | – | – |
| Faktor XIII | 48 | – | – | – | – | – | – | – | – | – |

[a] Während des Drug-Monitorings: Messgröße; [b] Aktivitätsverlust zum Ausgangswert <10 %. *APA* Antiphospholipidantikörper; *LMWH* »low molecular weight heparine; *HAES* Hydroxyethylstärker; *HMWK* »high molecular weight kininogen«; *OAK* orale Antikoagulazien; *UFH* unfraktioniertes Heparin

**! Da erhöht gemessene Werte durch eine Akute-Phase-Reaktion induziert sein können, wird vor endgültiger Bewertung eine Kontrolle in einem infektfreien Intervall empfohlen.**

## Literatur


Langdell RD, Wagner RH, Brinkhous KM (1953) Effect of antihemophilic factor on one-stage clotting tests: a presumptive test for hemophilia and a simple one-stage antihemophilic factor assay procedure. J Lab Clin Med 41: 637–647

Moore GW, Henley A, Cotton SS, Tugnait S, Rangarajan S (2007) Clinically significant differences between point-of-care analysers for monitoring the international normalized ratio in oral anticoagulant therapy: a multi-instrument evaluation in a hospital outpatient setting. Blood Coagul Fibrinolysis 18: 287–292

Poller L, Keown M, Ibrahim S et al.; European concerted action on anticoagulation (2007) Comparison of local international sensitivity index calibration and direct INR methods in correction of locally reported international normalized ratios: an international study. J Thromb Haemost 5: 1002–1009

Quick AJ, Stanley-Brown M, Bancroft FW (1935) A study of the coagulation defect in hemophilia and in jaundice. Am J Med Sci 190: 501–511

Rolla R, Vidali M, Serino R, Pergolini P, Albano E, Bellomo G (2007) Antibodies against oxidized phospholipids in laboratory tests exploring lupus anticoagulant activity. Clin Exp Immunol 149(1): 63–69

Smith SA, Comp PC, Morrissey JH (2006) Phospholipid composition controls thromboplastin sensitivity to individual clotting factors. J Thromb Haemost 4: 820–827

Spannagl M, Dick A, Reinauer H (2007) External quality assessment schemes in coagulation in germany: between regulatory bodies and patient outcome. Semin Thromb Hemost 33: 259–264

van den Besselaar AM, Barrowcliffe TW et al.; subcommittee on control of anticoagulation of the scientific and standardization committee of the ISTH (2004) Guidelines on preparation, certification, and use of certified plasmas for ISI calibration and INR determination. J Thromb Haemost 2: 1946–1953

# 63 Inhibitordiagnostik

*B. Pötzsch, J. Oldenburg*

## Einleitung

Antikörper werden als Inhibitoren bezeichnet, wenn sie gegen Gerinnungsfaktoren gerichtet sind und eine Funktionsstörung oder eine beschleunigte Elimination des Gerinnungsfaktors induzieren. Ziel der Inhibitordiagnostik ist es, die Spezifität und die Konzentration des Antikörpers zu bestimmen.

Der Plasmamischversuch ist ein Screeningtest zum Nachweis eines Inhibitors. Die Konzentration von funktionell aktiven Antikörpern wird durch Bestimmung der Bethesda-Einheiten angegeben. Dabei reduziert 1 Bethesda-Einheit die Faktorenaktivität in einem Normalplasma um 50%. Mit immunologischen Methoden können auch Antikörper erfasst werden, die nicht zu einer Funktionsstörung des Gerinnungsfaktors führen, aber dessen Halbwertszeit verkürzen.

## 63.1 Einleitung

Richtet sich eine Immunantwort mit der Bildung von Antikörpern gegen Gerinnungsfaktoren, kann daraus eine Dysfunktion des betroffenen Gerinnungsfaktors resultieren. Entsprechend des pathophysiologischen Mechanismus wird zwischen inhibitorischen und präzipitierenden Antikörpern unterschieden.

Inhibitorisch wirkende Antikörper sind gegen ein funktionell wichtiges Epitop des Gerinnungsfaktors gerichtet, sodass durch die Antikörperbindung die Funktionsfähigkeit des Gerinnungsfaktors reduziert wird. Demgegenüber senken präzipitierende Antikörper die Plasmakonzentration, indem die gebildeten Antigen-Antikörper-Komplexe beschleunigt eliminiert werden. Präzipitierende Antikörper können gegen alle Epitope eines Gerinnungsfaktors gerichtet sein (Hay et al. 2006).

Der Verdacht auf das Vorliegen eines Inhibitors besteht bei Patienten, die spontan eine Blutungssymptomatik entwickeln und die bis zum Einsetzen der Blutungssymptomatik gerinnungsgesund gewesen sind. Laboranalytisch hinweisend sind pathologische Globaltests mit einer Verminderung der Einzelfaktoraktivitäten in allen APTT- oder thromboplastinzeitbasierten Messsystemen.

Bei Patienten mit vorbekannten Gerinnungsstörungen wie einer Hämophilie A besteht ein Inhibitorverdacht bei einem abnehmenden Substitutionserfolg, charakterisiert durch steigenden Faktorenverbrauch und verminderte Faktorenhalbwertszeiten. Die Bestimmung der In-vivo-Faktorenhalbwertszeit ist ein besonders empfindlicher Parameter zur Erkennung eines Inhibitors.

Ziel der Labordiagnostik ist der Nachweis des Inhibitors, die Definition seiner Spezifität und seine Quantifizierung. Zu den in der Inhibitordiagnostik eingesetzten Testverfahren gehören der Plasmamischversuch, die spezifische funktionelle Diagnostik mit Bestimmung der Bethesda-Einheiten und die immunologische Inhibitorbestimmung (Favaloro et al. 2006; Marbet 2006).

## 63.2 Plasmamischversuch

### Indikation

Der Plasmamischversuch ist ein Screeningtest, der mit einfachen Mitteln den Verdacht auf das Vorliegen eines Inhibitors verifizieren kann. Er ist indiziert bei Patienten, bei denen aufgrund der klinischen Konstellation das Vorliegen eines Inhibitors vermutet wird.

### Testprinzip

Das Patientenplasma wird in steigenden Konzentrationen mit Normalplasma gemischt und in 2 Ansätzen für je 1 h und 2 h bei 37°C inkubiert. Anschließend erfolgt eine Bestimmung der APTT, der Thromboplastinzeit oder einer Einzelfaktoraktivität. Dabei ist für die Wahl der Bestimmungsmethode entscheidend, in welchem System beim Patienten zuvor die stärkste Abweichung vorgelegen hat.

### Messgröße und Befundmitteilung

Messgröße ist die Veränderung der Gerinnungszeiten in Abhängigkeit von der Konzentration an zugegebenem Standardnormalplasma. Zur Auswertung wird ein Kurvendiagramm erstellt, das die Konzentration an Standardnormalplasma auf der X-Achse und die Gerinnungszeiten auf der Y-Achse zeigt.

### Untersuchungsmaterial und Störgrößen

Untersuchungsmaterial ist Zitratplasma. Störgrößen sind die Behandlung mit Antikoagulanzien. Insbesondere indirekt wirkende Antikoagulanzien wie Heparin können sich im Plasmamischversuch wie ein Inhibitor verhalten.

### Qualitätskontrolle

Eine laborinterne Qualitätskontrolle ist durch Einsatz von Plasmen mit definierten Antikörperkonzentrationen möglich. Dazu sollten die Antikörper in einer hohen und einer am Grenzbereich des Tests liegenden Konzentration eingesetzt werden.

### Bewertung

Ist ein Faktorenmangel Ursache der verlängert gemessenen Gerinnungszeiten, kommt es mit steigender Konzentration an Standardnormalplasma zu einer linearen Verkürzung der Gerinnungszeiten. Bei einem Inhibitor hingegen setzt die Verkürzung der Gerinnungszeiten später ein, da auch die im Normalplasma vorhandenen Gerinnungsfaktoren neutralisiert werden. Ein typisches Beispiel für einen Faktorenmangel und einen Inhibitor ist in ◘ Abb. 63.1 dargestellt.

**In der Bewertung des Plasmamischversuchs muss berücksichtigt werden, dass es sich um einen semiquantitativen Test handelt. Trotzdem kann ein klinisch relevanter Inhibitor meist ausgeschlossen werden.**

Weiterhin muss berücksichtigt werden, dass nur funktionell inhibierende Antikörper erfasst werden. Aufgrund nicht ausreichender Sensitivität ist der Plasmamischversuch ungeeignet, um bei Hämophiliepatienten frühzeitig eine Inhibitorentwicklung zu erkennen.

## 63.3 Bestimmung der Bethesda-Einheiten

### Indikation

Die Bethesda-Methode wurde zur Quantifizierung von FVIII-Inhibitoren entwickelt (Kasper et al. 1975). Eine Bethesda-Einheit ist definiert als die Antikörpermenge, in deren Anwesenheit die FVIII-Aktivität eines Normalplasmas um 50% reduziert wird. Obwohl ursprünglich zur quantitativen Bestimmung von FVIII-Inhibitoren entwickelt, kann das Prinzip der Bethesda-Methode auf die quantitative Bestimmung anderer funktioneller Inhibitoren übertragen werden.

Indiziert ist die Bestimmung der Bethesda-Einheiten bei allen Patienten, bei denen der dringende Verdacht auf das Vorliegen eines FVIII-Antikörpers besteht oder ein FVIII-Inhibitor vorliegt. Modifizierte Formen werden zur Quantifizierung von anderen funktionellen Gerinnungsinhibitoren eingesetzt.

### Testprinzip

Zur Bestimmung der Bethesda-Einheiten wird das Patientenplasma seriell mit Puffer verdünnt. Diese verschiedenen Verdünnungsansätze werden mit einem Normalplasma, das als FVIII-Quelle dient, im Verhältnis 1:1 gemischt und nach einer Inkubationszeit von 3 h bei 37°C die FVIII-Aktivität der einzelnen Verdünnungsstufen bestimmt.

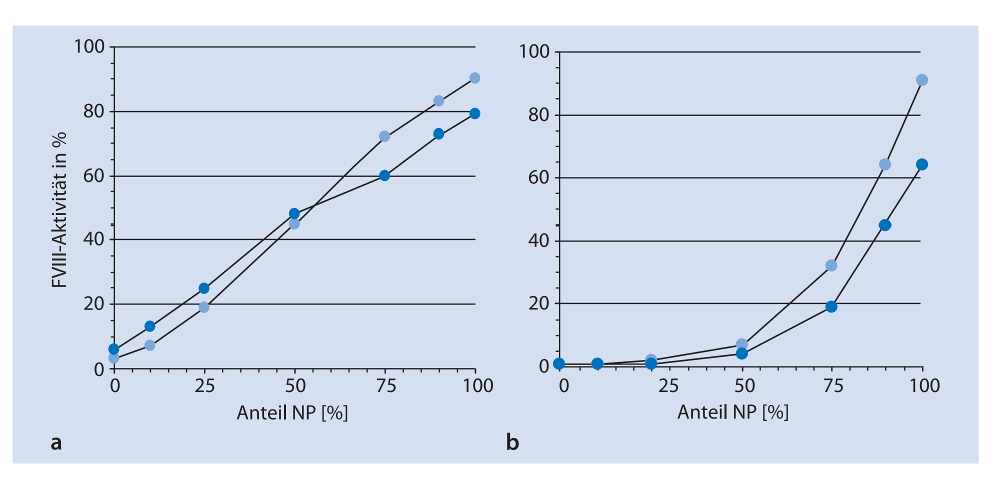
Um eine Bezugsgröße für die anschließende Berechnung der Bethesda-Einheiten zu erhalten, wird das Normalplasma ausschließlich mit Puffer 1:1 verdünnt und nach einer Inkubationszeit von 3 h bei 37°C die FVIII-Aktivität bestimmt. Mit diesem Ansatz wird der inhibitorunabhängige Aktivitätsverlust erfasst.

Die Testpräzision und Sensitivität wird durch die Verwendung eines Imidazolpuffers (pH 7,4) zur Plasmaverdünnung und einer 4%igen BSA-Lösung (BSA = bovines Serumalbumin) oder eines FVIII-Mangelplasmas zur Verdünnung der Bezugsprobe erhöht (Verbruggen et al. 1995, 2002).

Modifikationen der Bethesda-Methode betreffen die FVIII-Quelle und die FVIII-Bestimmung. In der Oxford-Methode wird ein FVIII-Konzentrat als FVIII-Quelle eingesetzt. Eine andere Modifikation bestimmt die FVIII-Aktivität chromogen über einen FXa-Generierungstest.

### Messgröße und Befundmitteilung

Messgröße ist die FVIII-Restaktivität in den einzelnen Verdünnungsstufen, die normiert wird durch die FVIII-Aktivität des Kontrollansatzes. Dazu wird die gemessene




◘ **Abb. 63.1a,b.** Ergebnisse eines Plasmamischversuchs. **a** Bei Faktorenmangel, **b** bei einem Inhibitor. *Hellblau Kurve* 1 h Inkubation; *dunkelblaue Kurve* 2 h Inkubation

**Tab. 63.1.** Beispiel einer Bestimmung der Restaktivität zur Bestimmung der Bethesda-Einheiten

| Patienten-plasma | FVIII-Rest-aktivität [%] | Normiert auf Kontrollansatz [%] (42% FVIII-Restaktivität*) | |
|---|---|---|---|
| Keine Verdünnung | 3 | 7,1 | =3×100/42 |
| 1+1 (1:2) | 7 | 16,6 | =7×100/42 |
| 1+3 (1:4) | 14 | 33,0 | =14×100/42 |
| 1+7 (1:8) | 26 | 62,0 | =26×100/42 |

* Im Kontrollansatz (Normalplasma + Puffer 1:1, inkubiert für 3 h) wurde in diesem Beispiel eine Restaktivität von 42% gemessen

Aktivität in % bezogen auf den Kontrollansatz ausgedrückt (Tab. 63.1).

Die zu den normierten FVIII-Aktivitäten zugehörigen Bethesda-Einheiten können auf dem Normogramm abgelesen werden (Abb. 63.2) und müssen abschließend mit der zugehörigen Verdünnungsstufe multipliziert werden (Tab. 63.2).

Entsprechend des Verlaufs der Faktorenaktivität mit zunehmender Verdünnung wird zwischen einer Typ-I- und einer Typ-II-Inhibitorkinetik unterschieden. Beim Typ I kommt es mit steigender Ausverdünnung zu einer linearen Zunahme der Aktivität, beim Typ II sinkt die Aktivität zunächst noch etwas ab und steigt erst später an. Dies erschwert die Bestimmung des Inhibitortiters.

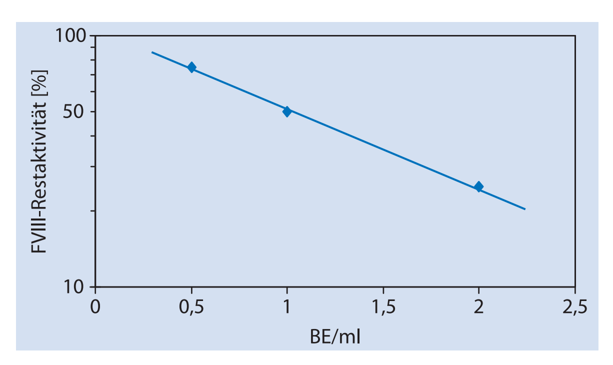



**Abb. 63.2.** Normogramm zur Ermittlung der Bethesda-Einheiten anhand der ermittelten FVIII-Restaktivität

**! Der Inhibitortiter sollte deshalb bei einer Restaktivität von 50% im Normogramm abgelesen werden.**

## Untersuchungsmaterial und Störgrößen

Die Untersuchung erfolgt aus Zitratplasma. Die Antikörper sind lagerungsstabil, sodass die Untersuchung auch aus Zitratblut durchgeführt werden kann, das bei Raumtemperatur gelagert wurde (Postversand möglich).

Störgrößen sind alle Einflüsse, die unabhängig vom Inhibitor die FVIII-Aktivitätsbestimmung beeinflussen. Dazu gehören Antikoagulanzien in erhöhter Plasmakonzentration wie unfraktioniertes Heparin und direkte FXa- und Thrombininhibitoren.

Eine weitere Störgröße sind Antiphospholipidantikörper. Diese können durch den unterschiedlichen klinischen Verlauf und durch eine gleichzeitig positiv verlaufende Antiphospholipiddiagnostik erkannt werden. In sehr seltenen Fällen findet sich eine Koinzidenz von Antiphospholipidantikörpern und gerinnungsfaktorspezifischen Antikörpern. In diesen Fällen ist eine differenzialdiagnostische Abgrenzung durch Kreuzneutralisation mit Phospholipidfraktionen und Faktorenkonzentraten möglich (Blanco et al. 2002).

## Qualitätskontrolle

Zur internen Qualitätskontrolle werden kommerziell erhältliche Plasmen mit definierten Inhibitorkonzentrationen angeboten. Auf europäischer Ebene werden Ringversuche angeboten.

## Bewertung

Ein Titer >0,6 BE/ml spricht für das Vorliegen eines Inhibitors. Bei Patienten mit einer Hämophilie A erfolgt anhand der Inhibitorkonzentration und des Inhibitorverlaufs unter

**Tab. 63.2.** Berechnung der Bethesda-Einheiten (BE)

| Patientenplasma | Normiert auf Kontrollansatz (42% FVIII-Restaktivität*) [%] | Abgelesene BE (Normogramm) | BE des Patientenplasmas |
|---|---|---|---|
| Keine Verdünnung | 7,1 | Ablesung nicht möglich | Auswertung nicht möglich |
| 1+1 (1:2) | 16,6 | Ablesung nicht möglich | Auswertung nicht möglich |
| 1+3 (1:4) | 33 | 1,7 | 6,8 (=1,7×4) |
| 1+7 (1:8) | 62 | 0,8 | 6,4 (=0,8×8) |

*Im Kontrollansatz (Normalplasma + Puffer 1:1, inkubiert für 3 h) wurde in diesem Beispiel eine Restaktivität von 42% gemessen (Tab. 63.1). Die BE des Patienten ergibt sich aus dem Mittelwert der erhaltenen Werte, in diesem Fall liegt ein Inhibitor von 6,6 BE vor.

der Therapie eine Differenzierung. Bei einem Wert >5 BE/ml spricht man von einem hochtitrigen Hemmkörper, bei einem Wert <5 BE/ml liegt ein niedrigtitriger Inhibitor vor. Entsprechend des Titerverlaufs unter FVIII-Exposition wird zwischen High- und Low-Respondern unterschieden. Bei High-Respondern kommt es etwa 5–7 Tage nach Fortführung der FVIII-Gabe zu einem Anstieg von >10 BE/ml.

## 63.4 Nichtfunktionelle Inhibitordiagnostik

### Indikation

Im direkten Nachweis werden Antikörper unabhängig von ihren funktionellen Eigenschaften erfasst. Deswegen können damit auch präzipitierende Antikörper diagnostiziert und quantifiziert werden. Verschiedene methodische Ansätze sind zum direkten Antikörpernachweis geeignet (Sahud 2000).

### Testprinzip

Ein häufig eingesetztes Testprinzip ist der Enzymimmunoassay. Hier wird das potenzielle Antigen auf einer Mikrotiterplatte immobilisiert und nach Überschichten des Patientenplasmas gebundene Antikörper über einen Sekundärantikörper nachgewiesen. Das Verfahren setzt voraus, dass FVIII oder die jeweiligen anderen Gerinnungsfaktoren als Antigene in gereinigter Form zur Verfügung stehen.

### Messgröße und Befundmitteilung

Die Messgröße ist abhängig von dem zum Nachweis des Sekundärantikörpers eingesetzten Indikatorsystems. Im Fall von Peroxidase-(POD-)markierten Antikörpern ist es die Änderung der optischen Dichte als Folge des Substratumsatzes. Anhand einer mitgeführten Standardkurve eines Plasmas mit definierter Inhibitorkonzentration erfolgt eine Umrechnung in relative Konzentrationseinheiten (U/ml).

### Untersuchungsmaterial und Störgrößen

Die Untersuchung erfolgt aus Zitratplasma oder EDTA-Plasma. Grundsätzlich ist auch eine Bestimmung aus Serum möglich.

### Qualitätskontrolle

Zur internen Qualitätskontrolle werden kommerziell erhältliche Plasmen mit definierten Inhibitorkonzentrationen eingesetzt.

### Bewertung

Liegt ein Messwert außerhalb der oberen Grenze des Referenzbereichs, kann vom Vorliegen eines Antikörpers ausgegangen werden, der den jeweiligen Gerinnungsfaktor spezifisch erkennt. Inwieweit diesem Befund ein Krankheitswert zukommt, wird in Zusammenhang mit dem klinischen Bild entschieden.

Besteht aufgrund einer verkürzten Halbwertszeit des substituierten Faktors VIII oder eines anderen Gerinnungsfaktors der Verdacht auf das Vorliegen eines Inhibitors, der sich im funktionellen Test nicht bestätigen lässt, kann durch einen positiven ELISA-Test die Diagnose eines nicht funktionellen Antikörpers mit präzipitierenden Eigenschaften gestellt werden. Ein wichtiger Stellenwert kommt dem direkten Nachweis beim Verdacht auf das Vorliegen eines Von-Willebrand-Faktor-Antikörpers zu.

Im direkten Vergleich mit der Bethesda-Methode kann durch die ELISA-Methode keine erhöhte, verbesserte Sensitivität erreicht werden (Ling et al. 2003; Sahud et al. 2007).

### Literatur

Blanco AN, Peirano AA, Grosso SH et al. (2002) A chromogenic substrate method for detecting and titrating anti-factor VIII antibodies in the presence of lupus anticoagulant. Haematologica 87: 271–278

Favaloro EJ, Bonar R, Duncan E et al. (2006) Identification of factor inhibitors by diagnostic haemostasis laboratories: a large multi-centre evaluation. Thromb Haemost 96: 73–78

Hay CRM, Brown S, Collins PW et al. (2006) The diagnosis and management of factor VIII and IX inhibitors: a guideline from the United Kingdom hemophilia centre doctors organisation. Brit J Haematol 133: 591–605

Kasper CK, Aledort LM, Counts RB et al. (1975) A more uniform measurement of factor VIII inhibitors. Thrombos Diathes Haemorrh 34: 869–872

Keeling D, Beavis J, Sukhu K (2005) A simple inhibitor screen is more sensitive than a Bethesda assay in monitoring for the development of inhibitors in haemophilia A and B. Brit J Haematol 128: 885–888

Ling M, Duncan EM, Rodgers SE et al. (2003) Low detection rate of antibodies to non-functional epitopes on factor VIII in patients with hemophilia A and negative for inhibitors by Bethesda assay. J Thromb Haemost 1: 2548–2553

Marbet GA (2006) Quantification of coagulation factors and inhibitors. Still a special task. Hämostaseologie 26: 38–41

Sahud MA, Pratt KP, Zhukov O et al. (2007) ELISA system for detection of immune response to FVIII: a study of 246 samples and correlation with the Bethesda assay. Haemophilia 13: 317–322

Sahud MA (2000) Laboratory diagnosis of inhibitors. Sem Thromb Haemost 26: 195–203

Verbruggen B, van Heerde W, Nováková I et al. (2002) A 4% solution of bovine serum albumin may be used in place of factor VIII:C deficient plasma in the control sample in the Nijmegen modification of the bethesda factor VIII:C inhibitor assay. Thromb Haemost 88: 362–364

Verbruggen B, Novakova I, Wessels H et al. (1995) The Nijmegen modification of the Bethesda assay for factor VIII:C inhibitors: improved specificity and reliability. Thromb Haemost 73: 247–251

# 64 Thrombingenerierung und endogenes Thrombinbildungspotenzial

*B. Pötzsch, K. Madlener*

## Einleitung

Kommerziell verfügbare Testverfahren messen kontinuierlich die Thrombingenerierung in Zitratplasma oder plättchenreichem Plasma über die Hydrolyserate eines chromogenen oder fluorogenen Peptidsubstrats. Wesentlicher Befundparameter ist die Gesamtmenge an gebildetem Thrombin, ausgedrückt als endogenes Thrombinbildungspotenzial (ETP). Eine gesicherte Indikation für den diagnostischen Einsatz dieses Tests existiert bisher nicht. Mögliche Einsatzfelder sind die Erfassung und Charakterisierung eines thrombophilen oder hämorrhagischen Phänotyps und die Überwachung einer Therapie mit gerinnungsaktiven Substanzen.

### Indikationen

Eine gesicherte Indikation zur Durchführung der Thrombingenerierung existiert nicht. Es ist vorstellbar, dass die Thrombingenerierung die Diagnostik von hämorrhagischen und thrombophilen Hämostasestörungen verbessern und zur Therapieüberwachung von Antikoagulanzien und gerinnungsaktiven Medikamenten eingesetzt werden könnte.

Eine Einschränkung der Thrombingenerierung ist bei Patienten mit verschiedenen plasmatischen und thrombozytären Hämorrhagien nachweisbar. Bei Patienten mit Hämophilie A konnte jedoch gezeigt werden, dass die Veränderungen der Thrombingenerierung nicht besser geeignet sind, den klinischen Phänotyp abzubilden, als die klassische Einzelfaktorenanalyse (Beltram-Miranda et al. 2005). Inwieweit die Thrombingenerierung bei Patienten mit thrombozytären Gerinnungsstörungen das Blutungsrisiko erfassen kann, ist aufgrund mangelnder Daten momentan nicht beurteilbar.

**! Eine gesteigerte Thrombingenerierung ist bei Patienten mit angeborener und erworbener Thrombophilie nachweisbar. Dies wurde von verschiedenen Arbeitsgruppen gezeigt (Rossing et al. 1997; Kyrle et al. 1998; Hron et al. 2006).**

Trotzdem ist die Thrombingenerierung in der Thrombophiliediagnostik kein allgemein akzeptiertes Verfahren. Dies liegt im Wesentlichen daran, dass es in diesem Indikationsfeld zurzeit keine Rationale für eine Verknüpfung der Thrombingenerierungsdiagnostik mit einem konkreten klinischen Handeln gibt und keine Managementstudien zu diesem Aspekt existieren.

Ein weiteres mögliches Einsatzgebiet der ETP ist die Überwachung von Antikoagulanzientherapien. Aber auch hier liegen keine systematischen Untersuchungen vor, die belegen, dass durch eine routinemäßige Bestimmung der Thrombingenerierung die Wirkungs-Nebenwirkungs-Ratio einer Antikoagulanzientherapie verbessert werden könnte. In Einzelfallberichten konnte gezeigt werden, dass mit der Thrombingenerierung eine Überwachung und Steuerung einer Therapie mit aktivierten Gerinnungsfaktoren wie rFVIIa und FEIBA (»factor eight inhibitor bypassing activity«) möglich ist (Dargaud et al. 2005).

### Hintergrund und Testprinzip

Unter In-vitro-Bedingungen ist die Aktivierung von etwa 2–5% des im Plasma vorliegenden Prothrombins ausreichend, um eine messbare Fibrinbildung zu induzieren. Deswegen können mit koagulometrischen Testverfahren nur bis zum Erreichen dieses Schwellenwerts Aussagen über die Thrombinbildung gemacht werden. Das Ziel der Thrombingenerierungsmessung ist es, die Thrombinbildung quantitativ über den Zeitpunkt der Fibrinbildung hinaus zu erfassen.

Erstmals war dies möglich, nachdem Testverfahren zur Bestimmung des Prothrombinfragments 1 und 2 (F1+2) und des Thrombin-Antithrombin-Komplexes (TAT) entwickelt worden waren. Bei sequenzieller Probennahme und anschließendem sofortigen Unterbrechen des Gerinnungsvorgangs kann über die Zunahme der F1+2-/TAT-Konzentration indirekt die Thrombinbildung erfasst werden. Ein Vorteil dieser indirekten und diskontinuierlichen Thrombingenerierungsanalyse ist, dass sie auch im Vollblut problemlos durchgeführt werden kann und erhaltene Ergebnisse auf die In-vivo-Situation übertragen werden können (Teitel et al. 1982; Knudsen et al. 1996). Ein wesentlicher Nachteil dieser Methodik ist die sequenzielle Probensammlung, die mit einem hohen Arbeitsaufwand verbunden ist und einen Einsatz unter Routinebedingungen nicht zulässt.

Eine direkte Messung der Thrombingenerierung wurde durch die Entwicklung von chromogenen Peptidsubstraten ermöglicht, deren Hydrolyserate unmittelbar proportional der Menge an funktionell aktivem Thrombin ist. Die in den heutigen kommerziell verfügbaren Testkonfigurationen eingesetzten fluorogenen Peptidsubstrate haben den Vorteil, dass die einsetzende Fibrinbildung die Messung nicht beeinträchtig (Hemker et al. 2006).

Eine weitere Schwierigkeit in der korrekten Bestimmung der Thrombingenerierung besteht in der Bildung von Thrombin-$\alpha_2$-Makroglobulin-Komplexen. $\alpha_2$-Makroglo-

bulin inhibiert zwar komplett die Interaktion von Thrombin mit natürlichen Substraten, blockiert aber nicht das aktive Zentrum des Thrombins, sodass Peptidsubstrate weiter hydrolysiert werden können. Zwischen der Menge an generiertem freiem Thrombin und der Menge an gebildeten Thrombin-$\alpha_2$-Makroglobulin-Komplexen besteht jedoch eine fixe Korrelation, sodass über eine Korrekturformel die tatsächliche Menge an gebildetem Thrombin berechnet werden kann.

**Aufgrund dieser Eigenschaften können gereinigte Thrombin-$\alpha_2$-Makroglobulin-Komplexe zur Erstellung eines internen Standards genutzt werden (Hemker et al. 2006).**

## Messgröße und Befunderhebung

Messgröße ist die Hydrolyserate eines Peptidsubstrats, aus der anhand eines internen Standards die Thrombingenerierung errechnet wird. Der Berechnungsalgorithmus berücksichtigt die Bildungsrate der Thrombin-$\alpha_2$-Makroglobulin-Komplexe. Wie in Abb. 64.1 dargestellt, können aus der Thrombingenerierungskurve folgende Parameter abgeleitet werden:

- Reaktionszeit oder »lag-time« (min) bis zum Nachweis einer signifikanten Thrombinbildung,
- Thrombinmaximum (nM),
- endogenes Thrombinbildungspotenzial (ETP), ermittelt als »area under the curve«,
- maximale Thrombinbildungsgeschwindigkeit (nM/min),
- Zeit bis zum maximalen Thrombinpeak (min),
- maximale Abnahme der Thrombinbildung (nM/min).

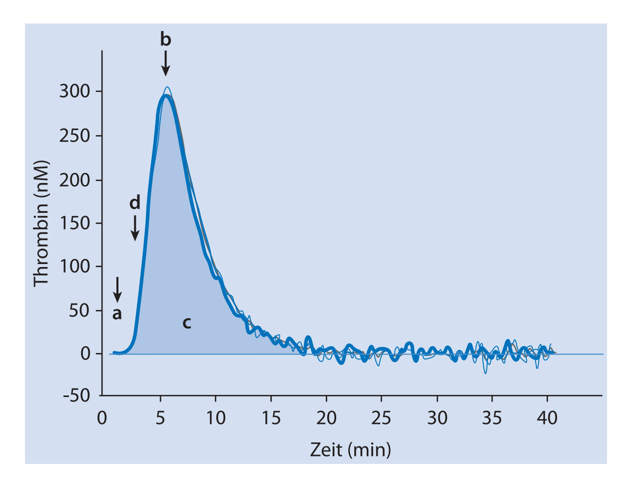



**Abb. 64.1.** Darstellung einer Thrombingenerierungskurve. Nach Zugabe von Tissue Factor wird die zeitabhängige Thrombinbildung gemessen und anhand eines Standards die Thrombinmenge berechnet. Aus der Kurve können die Parameter »lag-time« (a), Thrombinmaximum (b), endogenes Thrombinbildungspotential (c) und maximale Thrombinbildungsgeschwindigkeit abgeleitet werden

Am weitesten verbreitet ist zurzeit eine Bewertung der Thrombingenerierung über das ETP.

## Untersuchungsmaterial

Mit den angebotenen Methoden ist eine Analyse im Zitratplasma möglich. Die von Hemker entwickelte und in Form des Thrombinoskops vertriebene Methode ermöglicht darüber hinaus eine Bestimmung im plättchenreichen Plasma (Hemker et al. 2006). Eine Bestimmung mit Vollblut ist mit den kommerziellen Testverfahren bisher nicht möglich.

## Referenzbereiche und Einflussfaktoren

Die Messung der Thrombingenerierung ist zurzeit keine Routinemethode. Deswegen existieren bisher auch nur wenige, systematische Untersuchungen zu Referenzbereichen und Einflussfaktoren. Bei Einsatz der Thrombingenerierung als klinisch-diagnostischer Parameter sollte deswegen vom Anwender ein eigener Referenzbereich erstellt werden.



**Ein wesentlicher Einflussfaktor ist das Alter: Mit zunehmendem Lebensalter kommt es zu einem kontinuierlichen Anstieg des ETP (Haidl et al. 2006).**

Die mit 15% relativ hohe interindividuelle Variabilität lässt vermuten, dass über das Lebensalter hinaus noch eine Reihe von weiteren Einflussfaktoren existieren.

## Störgrößen

Die Messung von lipämischen und ikterischen Plasmen ist bei Verwendung von Thrombingenerierungstests, die mit chromogenen Substraten arbeiten, gestört. Eine erhöhte Eigenfluoreszenz des Plasmas, beispielsweise durch die Einnahme von Medikamenten, kann die fluorogene Messung stören.

Eine weitere Limitierung der Methode besteht in dem Einsatz eines synthetischen Thrombinsubstrats selbst. Dieses Substrat kompetitiert mit den natürlichen Thrombinsubstraten um die Bindung an Thrombin (Butenas u. Mann 2007). Da Thrombin seine eigene Aktivierung über Rückkopplungsmechanismen, wie z. B. die FV- und FVIII-Aktivierung, verstärkt, können diese Reaktionen durch die Kompetition mit dem synthetischen Substrat verzögert werden. Daraus können verlängerte Thrombinbildungszeiten und durch Störung der natürlichen Thrombininaktivierung auch verzögerte Thrombininaktivierungszeiten resultieren. Mit diesem Mechanismus können Unterschiede zwischen der direkten und indirekten Thrombingenerierungsmessung erklärt werden (Lau et al. 2007).

## Literatur

Beltran-Miranda CP, Khan A, Jaloma-Cruz AR, Laffan MA (2005) Thrombin generation and phenotype correlation in hemophilia A. Hemophilia 11: 326–334

Butenas S, Mann KG (2007) Caution in the interpretation of continuous thrombin generation assays. J Thromb Haemost 5: 1084–1085

Dargaud Y, Trzeciak MC, Bordet JC, Ninet J, Negrier C (2006) Use of calibrated automated thrombinography + thrombomodulin to recognise the prothrombotic phenotype. Thromb Haemost 96: 562 – 567

Dargaud Y, Lienhart A, Meunier S, Hequet O, Chavanne H, Chamouard V, Marin S, Negrier C (2005) Major surgery in a severe hemophilia A patient with high titre inhibitor: use of the thrombin generation test in the therapeutic decision. Hemophilia 11: 552–558

Haidl H, Cimenti C, Leschnik B, Zach D, Muntean W (2006) Age-dependency of thrombin generation measured by means of calibrated automated thrombography (CAT). Thromb Haemost 95: 772–775

Hemker HC, Al Dieri R, De Smedt E, Beguin S (2006) Thrombin generation, a function test of the hemostatic-thrombotic system. Thromb Haemost 96: 553 – 561

Hron G, Kollars M, Binder BR, Eichinger S, Kyrle PA (2006) Identification of patients at low risk for recurrent venous thromboembolism by measuring thrombin generation. JAMA 296: 397–402

Knudsen L, Hasenkam JM, Kure HH, Hughes P, Bellaiche L, Ahlburg P, Djurhuus C (1996) Monitoring thrombin generation with prothrombin fragment 1.2 assay during cardiopulmonary bypass surgery. Thromb Res 84: 45–54

Kyrle PA, Mannhalter C, Beguin S et al. (1998) Clinical studies and thrombin generation in patients homozygous or heterozygous for the G20210A mutation in the prothrombin gene. Arterioscler Thromb Vasc Biol 18: 1287–1291

Lau A, Berry LR, Mitchell LG, Chan AK (2007) Effect of substrate and fibrin polymerization inhibitor on determination of plasma thrombin generation in vitro. Thromb Res 119: 667–677

Rosing J, Tans G, Nicolaes GA et al. (1997) Oral contraceptives and venous thrombosis: different sensitivities to activated protein C in women using second- and third-generation oral contraceptives. Br J Haematol 97: 233–238

Teitel JM, Bauer KA, Lau HK, Rosenberg RD (1982) Studies of the prothrombin activation pathway utilizing radioimmunoassays for the F2/F1+2 fragment and the thrombin-antithrombin complex. Blood 59: 1086–1097

# 65 Von-Willebrand-Faktor- und ADAMTS13-Diagnostik

*U. Budde, R. Schneppenheim*



## Einleitung

Die Von-Willebrand-Faktor-Diagnostik ist eine Multikomponentendiagnostik, die neben der vWF-Antigen-Bestimmung verschiedene unterschiedliche funktionelle Testverfahren umfasst. Mit dem Ristocetin-Cofaktor wird die Fähigkeit des vWF zur Bindung an den thrombozytären Glykoprotein-Ib-IX-Komplex gemessen, während die Kollagenbindungsaktivität die Interaktion des vWF mit dem Matrixprotein Kollagen bestimmt. Die vWF-Mulitmeranalyse und die FVIII-Bindungskapazität sind weitere Komponenten der vWF-Diagnostik.

ADAMTS13 ist ein Enzym, das die Größe der im Plasma zirkulierenden vWF-Multimere reguliert. Die ADAMTS13-Aktivität und der Nachweis von ADAMTS13-Antikörpern werden in der Diagnostik von mikroangiopathischen Erkrankungen eingesetzt.

## 65.1 Von-Willebrand-Faktor-Antigen

### Indikationen

Folgende Situationen erfordern die Bestimmung des Von-Willebrand-Faktor-Antigens:

- Ausschluss einer Von-Willebrand-Erkrankung (vWE) bei einer Störung der primären Hämostase,
- Verdacht auf eine angeborene oder erworbene vWE,
- Differenzierung der verschiedenen Typen und Subtypen der vWE.

Ohne das Wissen um die Konzentration des vWF ist eine Differenzierung zwischen vermindertem und dysfunktionellem vWF nicht möglich. Die Bestimmung des vWF-Antigens in Thrombozyten kann hilfreich sein (z. B. bei der Differenzierung zwischen einem schweren Typ 1 und einem Typ 3).

### Testprinzip

Die quantitative Bestimmung des vWF-Antigens erfolgt immunologisch in verschiedenen Assay-Formaten (Cejka 1992). Ein empfindlicher, gut reproduzierbarer Test ist ein klassischer Sandwich-ELISA mittels poly- oder monoklonaler Antiseren. Die schnellen latexverstärkten Immuntests erlauben eine relativ rasche (etwa 15 min) und genaue Bestimmung. Die Latexpartikel sind mit einem Antikörper gegen das vWF-Antigen beschichtet. Entsprechend der Konzentration des vWF-Antigens kommt es zu einer Agglutination der Partikel in der Messküvette und das Ausmaß der Agglutination wird gemessen.

**Sandwich-ELISA.** Der vWF der zu untersuchenden Probe wird von dem an eine geeignete Oberfläche (Mikrotiterplatte) gebundenen Antikörper gegen das vWF-Antigen extrahiert und anschließend mittels eines enzymmarkierten Antikörpers gegen den vWF detektiert.

**Latexbasierte Tests.** Dies sind üblicherweise fertig konfektionierte Testkits zur Abarbeitung auf geeigneten (Gerinnungs-)Automaten (Veyradier et al. 1999).

### Messgröße und Befundmitteilung

Die Messgröße ist die optische Dichte oder die Agglutination, die anhand eines mitgeführten Standards in die vWF-Antigen-Konzentration umgerechnet und in % bezogen auf ein Standardnormalplasma oder IU/ml angegeben wird. Der Standard sollte an einem aktuellen WHO-Standard kalibriert sein.

### Untersuchungsmaterial

Das typische Untersuchungsmaterial ist Zitratplasma. Messungen im EDTA-Plasma und im Serum sind ebenso möglich. Es gelten dann jedoch andere Referenzbereiche.

### Störgrößen

Störgröße bei ELISA-Tests sind unspezifische Antikörperbindungen und kreuzreagierende Antikörper. Bei Untersuchungen in gereinigten Materialien (Konzentrate oder rekombinanter vWF) muss die Matrix auf diese Störfaktoren untersucht werden.

**! Latex-Tests sind deutlich sensibler auf Störgrößen als ELISA-Tests. Störgrößen sind lipämische, hämolytische und ikterische Plasmen und erhöhte Rheumafaktoren.**

### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

Für die Bestimmung des vWF-Antigens ist ein blutgruppenunabhängiger Referenzbereich von 50–160% zu erwarten. Da jedoch dieser Bereich von der verwendeten Methode abhängig ist, sollte der Referenzbereich von jedem Labor selbst bestimmt werden.

Ein Teil der Laboratorien führt blutgruppenspezifische Referenzbereiche an, da der Plasmaspiegel mit der Blutgruppe variiert. Die Konzentrationen für die Blutgruppe 0

liegen etwa 25% niedriger als die der übrigen Blutgruppen. Für die Blutgruppe 0 sind daher Werte zwischen 35 und 130% zu erwarten, für die übrigen Blutgruppen zwischen 50 und 180%.

Testsysteme, die nicht entsprechend den geltenden Richtlinien von den Herstellern zertifiziert sind, sollten entsprechend den Richtlinien der ICH (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use) validiert werden. Als Referenzpräparation kommen Plasmen infrage, die gegen den jeweils gültigen WHO-Standard kalibriert sind. Die Qualitätssicherung erfolgt durch das laboreigene Qualitätssicherungssystem und die Teilnahme an externen Ringversuchen.

#### Bewertung

In der überwiegenden Mehrzahl (>80%) der Patienten mit einer vWE ist das vWF-Antigen erniedrigt. In der Interpretation der Werte muss berücksichtigt werden, dass der vWF zu den Akute-Phase-Proteinen gehört. Ferner muss berücksichtigt werden, dass die Untersuchung bei einem Verdacht auf eine Von-Willebrand-Erkrankung unvollständig ist, wenn nicht zusätzlich die Funktionsfähigkeit des vWF mit einer geeigneten Methode untersucht wird.

## 65.2 Ristocetin-Kofaktoraktivität

#### Indikationen

Folgende Situationen erfordern die Bestimmung der Ristocetin-Kofaktoraktivität (vWF:RCo):

- Ausschluss einer vWE bei einer Störung der primären Hämostase,
- Verdacht auf eine angeborene oder erworbene vWE,
- Differenzierung der verschiedenen Typen und Subtypen der vWE.

#### Testprinzip

In Anwesenheit von Ristocetin agglutiniert vWF konzentrationsabhängig Thrombozyten. Diese Eigenschaft des Ristocetins wird zur Bestimmung der Ristocetin-Kofaktoraktivität eingesetzt. Dazu werden gewaschene Thrombozyten mit Ristocetin und unterschiedlichen Verdünnungen des Patientenplasmas inkubiert (Macfarlane et al. 1975; Preston 1998).

Geeignet sind sowohl frische als auch fixierte, lyophilisierte oder eingefrorene Thrombozyten. Bei frischen Thrombozyten ist die Haltbarkeit auf wenige Stunden begrenzt. Daher werden meist konservierte Thrombozyten eingesetzt. Kommerzielle Testthrombozyten werden derzeit von 2 Herstellern angeboten. Die Reaktion kann auf Testplatten, in Thrombozytenaggregometern oder in Gerinnungsautomaten durchgeführt werden. Zur Bewertung wird die Aktivität des Testplasmas mit der eines Standardplasmas verglichen.

Problematisch ist die große Variabilität der Methoden, die seit den Anfängen der Untersuchungen der Ristocetin-Kofaktoraktivität bekannt ist, sich aber trotz vielfältiger Bemühungen nicht abstellen ließ. Wesentlich besser standardisierbar und erheblich sensitiver sind ELISA-Methoden. Hier wird anstelle von Thrombozyten rekombinat hergestelltes GP Ib eingesetzt.

#### Agglutinationsmethode auf einer Glasplatte

Es wird eine geometrische Verdünnungsreihe sowohl des Referenzplasmas als auch der Probe hergestellt (1:10 bis 1:160). Auf die Untersuchungsfelder der Glasplatte werden 50 µl verdünnte Probe und 50 µl einer ristocetinhaltigen Thrombozytensuspension gemischt, für eine Minute langsam bewegt und nach einer Ruhezeit von einer weiteren Minute visuell beurteilt. Die höchste Verdünnungsstufe, die noch zu einer Agglutination führt, wird mit einem chargenspezifischen Faktor multipliziert. Das Produkt gibt die Aktivität an.

#### Agglutinationsmethode mittels Aggregometer

Für die Bezugskurve wird das Referenzplasma unverdünnt sowie 1:2 bis 1:32 verdünnt eingesetzt. In die Aggregometerröhrchen werden 450 µl Thrombozytensuspension, 50 µl einer definierten Menge Ristocetin (z. B. 1 mg/ml) und 50 µl Plasmaprobe pipettiert. Messgrößen sind die maximale Agglutination (z. B. nach 5 min) oder die maximale Transmissionsänderung. Die Plasmaproben werden unverdünnt und 1:2 verdünnt eingesetzt, eine Umrechnung in Prozentwerte erfolgt anhand der Bezugskurve.

**! Bei Werten oberhalb des Messbereichs der Bezugskurve müssen höhere Verdünnungen der Patientenprobe eingesetzt werden.**

#### Bestimmung auf Gerinnungsautomaten

Maßgebend für die Durchführung auf automatisierten Gerinnungsanalysesystemen sind die Anleitungen der Hersteller.

#### Messgröße und Befundmitteilung

Angegeben wird die Ristocetin-Kofaktoraktivität in % des Standards oder in IU/ml. Zusätzlich sollte der Quotient aus der Ristocetin-Kofaktoraktivität und der aus derselben Probe bestimmten vWF-Antigenkonzentration gebildet werden. Dieser Quotient kann Auskunft über einen dysfunktionellen vWF geben. Allerdings wurde diese Ratio bisher nicht validiert, und es herrscht Uneinigkeit über die Grenze, ab wann der vWF als dysfunktionell gelten darf. Meist wird eine Ratio <0,7 gewählt.

### Untersuchungsmaterial

Das typische Untersuchungsmaterial ist Zitratplasma. Messungen im EDTA-Plasma und im Serum sind ebenso möglich. Es gelten dann jedoch andere Referenzbereiche.

### Störgrößen

Störgrößen sind lipämische, hämolytische und ikterische Plasmen. Bei Untersuchungen in gereinigten Materialien (Konzentrate oder rekombinanter vWF) muss die Matrix auf mögliche Störfaktoren untersucht werden.

### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

In der Erstellung der Referenzbereiche muss die Blutgruppenabhängigkeit berücksichtigt werden (▶ Kap. 65.1).

### Bewertung

Bei dem Verdacht auf eine angeborene oder erworbene vWE sollte die Ristocetin-Kofaktoraktivität immer zusammen mit dem vWF-Antigen bestimmt werden. In Relation zum vWF-Antigen detektiert eine diskrepant niedrige Ristocetin-Kofaktoraktivität mit hoher Diskriminationsrate ein dysfunktionelles Molekül.

Die Methode ist unempfindlicher als die Bestimmung der Kollagenbindungsaktivität auf funktionell abnormale Moleküle (▶ Kap. 65.3). Sie kann jedoch als einziger spezifischer Parameter akut ohne großen Laboraufwand bestimmt werden. Da sie die Interaktion des vWF mit dem GP-Ib-Rezeptor erfasst, ist er zur Diagnose des Typ 2M der vWE ein unerlässlicher Test.

## 65.3 Kollagenbindungsaktivität

### Indikationen

Folgende Situationen erfordern die Bestimmung der Kollagenbindungsaktivität (vWF:CB):

- Ausschluss einer vWE bei einer Störung der primären Hämostase,
- Verdacht auf eine angeborene oder erworbene vWE,
- Differenzierung der verschiedenen Typen und Subtypen der vWE.

### Testprinzip

Eine der wichtigsten Funktionen des vWF ist seine Bindung an subendotheliales Kollagen. In vitro kann sie durch die Bindung des Moleküls an immobilisiertes Kollagen (Typ I oder Typ III) nachgeahmt werden. Wichtig ist, mit einem begrenzten Angebot an Kollagen zu arbeiten, da der hochmolekulare vWF mit kleineren Molekülen um die vorhandenen Bindungsstellen konkurriert. Nur dann reagiert der Test hochempfindlich auf von vWF mit einem Verlust großer Multimere (Thomas et al. 1994).

Der vWF der zu untersuchenden Probe wird von dem an eine geeignete Oberfläche (Mikrotiterplatte) gebundenen Kollagen extrahiert und anschließend mittels eines Antikörpers gegen den vWF detektiert. Der sensibelste Schritt bei diesem Test ist die Immobilisierung des Kollagens an die Plastikoberfläche.

### Messgröße und Befundmitteilung

Messgröße ist die Konzentration des an Kollagen gebundenen vWF, die über ein Indikatorsystem erfasst wird. Anhand einer mitgeführten Bezugskurve erfolgt eine Umrechnung in % oder in IU/ml.

Zusätzlich sollte der Quotient aus der Kollagenbindungsaktivität und dem vWF-Antigen gebildet werden. Diese Ratio wurde bisher nicht validiert und es herrscht Uneinigkeit über die Grenze, ab wann der VWF als dysfunktionell gelten darf. Meist wird eine Ratio <0,7 gewählt.

### Untersuchungsmaterial

Das typische Untersuchungsmaterial ist Zitratplasma. Messungen im EDTA-Plasma und im Serum sind ebenso möglich. Es gelten dann jedoch andere Referenzbereiche.

### Störgrößen

Neben unspezifischen Bindungen sind wenige Störgrößen bekannt. Bei Untersuchungen in gereinigten Materialien (Konzentrate oder rekombinanter VWF) muss die Matrix auf mögliche Störfaktoren untersucht werden.

### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

In der Erstellung der Referenzbereiche muss die Blutgruppenabhängigkeit berücksichtigt werden (▶ Kap. 65.1).

### Bewertung

Der Quotient aus Kollagenbindungsaktivität zu vWF-Antigen erlaubt eine Aussage über die Funktionsfähigkeit des vWF (Brown u. Bosak 1986; Thomas et al. 1994). Für die Erfassung von reinen Kollagenbindungsdefekten mit Mutationen in der A3-Domäne ist dies der einzige Test, der diese Varianten der vWE aufzudecken vermag.

## 65.4 Von-Willebrand-Faktor-Aktivitätstests

### Indikationen

Folgende Situationen erfordern die Bestimmung:

- Ausschluss einer vWE bei einer Störung der primären Hämostase,
- Verdacht auf eine angeborene oder erworbene vWE,
- Differenzierung der verschiedenen Typen und Subtypen der vWE.

### Testprinzip

Der monoklonale Antikörper (MoAk) RFF-VIII:R/1 ist gegen ein Epitop auf dem vWF gerichtet, das in die Bindung an GP Ibα involviert ist. Dieser MoAk blockiert die vWF-Bindung und inhibiert die ristocetininduzierte Thrombozytenagglutination. Mit diesem MoAk als erstem Antikörper wurden kommerzielle Tests auf der Basis eines Sandwich-ELISA oder eines latexbasierten Tests entwickelt.

**Sandwich-ELISA.** Der vWF der zu untersuchenden Probe wird von dem an eine geeignete Oberfläche (Mikrotiterplatte) gebundenen MoAk extrahiert und anschließend mittels eines Antikörpers gegen den vWF detektiert. Gemessen wird eine enzymatische Farbreaktion.

**Latexbasierte Tests.** Dies sind üblicherweise fertig konfektionierte Testkits zur Abarbeitung auf geeigneten (Gerinnungs-) Automaten.

### Messgröße und Befundmitteilung

Messgröße ist die Konzentration an gebundenem Antikörper, die mit der Anzahl der zur Verfügung stehenden GP-Ib-Bindungsstellen auf dem vWF korrelliert. Die Befundmitteilung erfolgt in Prozent bezogen auf ein Normalplasma (Vanhoorelbeke et al. 2000).

### Untersuchungsmaterial

Das typische Untersuchungsmaterial ist Zitratplasma.

### Störgrößen

Neben unspezifischen Bindungen sind Störgrößen im ELISA gering. Der Latextest ist deutlich sensibler auf Störgrößen. Störgrößen sind lipämische, hämolytische und ikterische Plasmen und erhöhte Rheumafaktoren.

### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

In der Erstellung der Referenzbereiche muss die Blutgruppenabhängigkeit berücksichtigt werden (► Kap. 65.1).

### Bewertung

In Relation zum vWF-Antigen detektiert eine niedrige Ratio von vWF-Aktivität zu vWF-Antigen jedoch häufig ein dysfunktionelles Molekül. Diese Methode ist unempfindlicher als die Kollagenbindungsaktivität oder die Ristocetin-Kofaktoraktivität auf funktionell abnormale Moleküle.

**! Die vWF-Aktivität kann jedoch als latexbasierter Test sehr schnell bestimmt werden und hat daher für die Akutdiagnostik Vorteile.**

## 65.5 Ristocetininduzierte Plättchenagglutination (RIPA-Test)

### Indikationen

Folgende Situationen erfordern die Bestimmung:

- Ausschluss einer vWE bei einer Störung der primären Hämostase,
- Verdacht auf eine angeborene oder erworbene vWE,
- Differenzierung der verschiedenen Typen und Subtypen der vWE,
- Abklärung einer Thrombozyopathie.

### Testprinzip

Ristocetin reduziert nach seiner Bindung an die Thrombozytenoberfläche die negative Ladung des Glykoproteinkomplexes Ib-IX und erleichtert dadurch die Bindung des vWF. Im Aggregometer kommt es hierdurch zu einer Agglutination der Thrombozyten im plättchenreichen Plasma (PRP). Gemessen wird die Grenzkonzentration, bei der es noch zu einer eindeutigen sofort einsetzenden Agglutination kommt (Ruggeri et al. 1980).

Das PRP wird aus frisch entnommenem Zitratblut durch Differenzialzentrifugation gewonnen. Nach dem Erreichen einer stabilen Basislinie im Aggregometer wird die Reaktion durch die Zugabe von Ristocetin gestartet. Begonnen werden sollte mit 0,5 mg/ml, der Konzentration, bei der alle Patienten mit gesteigerter Interaktion agglutinieren, nicht jedoch Normalpersonen. Danach kann die Konzentration in mehreren Schritten gesteigert werden bis zur höchsten Konzentration von 1,5 mg/ml (Abb. 65.1).

### Messgröße und Befundmitteilung

Gemessen wird das Ausmaß der Agglutination. Mitgeteilt wird die Ristocetinkonzentration, auf die das PRP eine deutliche und sofort einsetzende Agglutination gezeigt hat. Diese Konzentration wird mit denen von 20–30 normalen Probanden verglichen und als »vermindert«, »normal« oder »gesteigert« klassifiziert.

### Untersuchungsmaterial

Untersuchungsmaterial ist aus Zitratplasma hergestelltes PRP. Messungen im EDTA-PRP sind ebenso möglich.

### Störgrößen

Die Methode ist wenig empfindlich auf die Thrombozytenzahl im PRP, jedoch wird es schwierig bei Thrombozytenzahlen unter 50.000/µl ein PRP zu gewinnen, das noch eindeutige Reaktionen zeigt. Da es bei Patienten mit einer sehr starken Interaktion von vWF und GP Ib zu einer deutlichen Spontanagglutination kommt, ist hier die Aussagefähigkeit der Methode stark eingeschränkt.

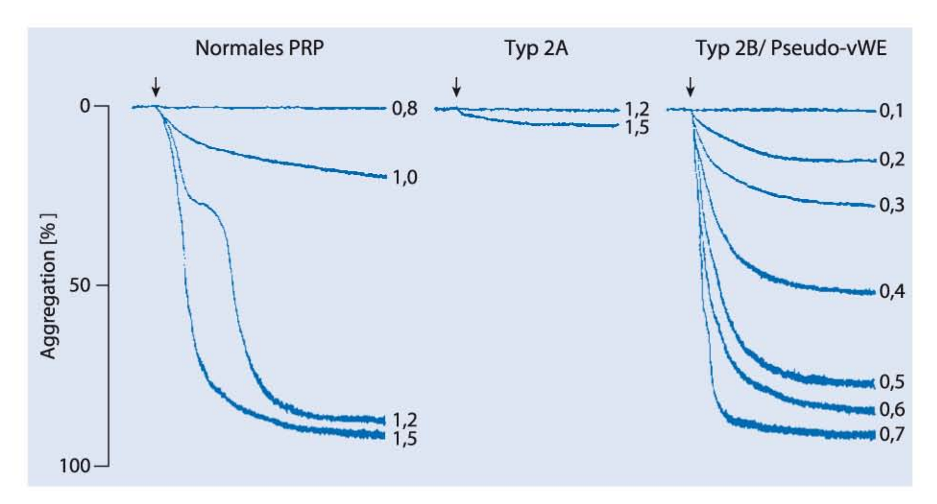



**Abb. 65.1.** Ristocetininduzierte Agglutination bei Patienten mit vWE Typ 2A, Typ 2B und Pseudo-vWE im Vergleich zu Normalpersonen. Während fast alle Patienten mit Typ 2B oder Pseudo-vWE eine gesteigerte Interaktion mit Ristocetin zeigen, ist das Verhalten bei den Typen 2A und 2M variabel. Die jeweiligen Ristocetinkonzentrationen stehen neben den Kurven. *PRP* plättchenreiches Plasma

Da es sich um eine lichtoptische Messung handelt, wird sie durch lipämische und ikterische Plasmen sowie die Beimischung von Leuko- und Erythrozyten gestört.

### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

Die Schwellenwerte für eine »verminderte«, »normale« oder »gesteigerte« Reaktion werden durch Untersuchung von 20–30 normalen Probanden ermittelt. Die Konzentration, bei der normale Probanden nicht mehr reagieren, hat hierbei die größte Bedeutung. Diese ist zwar international mit 0,5 mg/ml festgelegt, sollte jedoch auch für das eigene Labor bestätigt werden.

Neben einer regelmäßigen Testung von normalen Probanden ist eine Qualitätskontrolle in der Routine nicht möglich.

### Bewertung

Der RIPA-Test hat seine Domäne in der Identifizierung von Patienten mit gesteigerter Interaktion des vWF mit Thrombozyten (vWF Typ 2B und Plättchentyp). Da einige Patienten mit Typ 2M eine verminderte RIPA aufweisen, können sie durch diesen Test vom Typ 1 unterschieden werden. Patienten mit einem Bernard-Soulier Syndrom haben eine auch mit der höchsten Ristocetinkonzentration ausbleibende Agglutination.

## 65.6 Faktor-VIII-Bindungskapazität (vWF:FVIIIB)

### Indikationen

Die Diagnose einer vWE Typ 2N kann nur durch Bestimmung der FVIII-Bindungskapazität sicher gestellt werden. Die Untersuchung ist indiziert bei Patienten, deren FVIII-Verminderung einem autosomalen Erbgang zugeordnet werden kann. Weiterhin ist er sinnvoll bei Patienten mit Hämophilie A ohne nachweisbaren Defekt im FVIII-Gen.

### Testprinzip

Es wird die Bindung von hochreinem FVIII an den vWF der Patienten gemessen. Alle bisher beschriebenen Testmodifikationen beruhen auf einem mehrstufigen Festphasenimmunoassay mit folgenden Schritten:

- Bindung des FVIII-vWF-Komplexes aus Patientenplasma an eine feste Phase,
- Entfernen des endogenen FVIII,
- Zugabe einer definierten Menge hochreinem FVIII,
- Messung des gebundenen FVIII,
- Messung des zuvor immobilisierten vWF,
- Erstellen einer Bindungskurve (Mazurier 1992; Nishino et al. 1989).

Als feste Phase dient ein an die Oberfläche einer Mikrotiterplatte gebundener Antikörper gegen den vWF. An ihn bindet der seriell verdünnte FVIII-vWF-Komplex des Patienten. Die Lösung des endogenen FVIII aus dem Komplex geschieht durch Inkubation mit einem Puffer mit hohen Kalziumkonzentrationen. Danach folgt die Zugabe einer definierten Menge eines rekombinanten FVIII-Konzentrats. Anschließend wird der gebundene FVIII im chromogenen FVIII-Test oder mittels eines enzymmarkierten monoklonalen Antikörpers gegen FVIII gemessen. Im letzten Schritt wird gemessen, wie viel vWF im ersten Schritt gebunden wurde und gegen den gebundenen FVIII in Beziehung gesetzt.

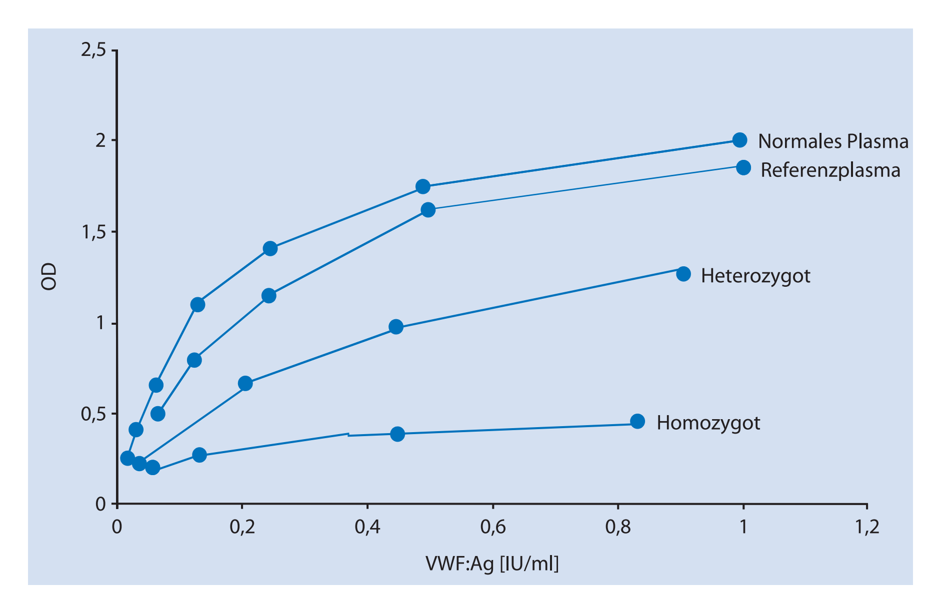



**Abb. 65.2.** Analyse der FVIII-Bindungsfähigkeit des vWF. Mit steigender vWF-Konzentration kommt es zu einer linearen Zunahme der FVIII-Bindung. Patienten mit einer Mutation in der FVIII-Bindungsstelle des vWF- Moleküls weisen eine verminderte FVIII-Bindungsfähigkeit auf. *OD* optische Dichte; *vWF:Ag* Von-Willebrand-Faktor-Antigen

### Messgröße und Befundmitteilung

Die Bindungskurven werden qualitativ ausgewertet und in die Kategorien normal; stark vermindert bzw. keine Bindung eingeteilt.

**Eine Angabe in % der Faktor-VIII-Bindungskapazität (vWF:FVIIIB) im Vergleich zu einem Referenzplasma ist bei normaler Bindungskapazität möglich, nicht jedoch bei einem Bindungsdefekt, da hier die Bindungskurven nicht parallel verlaufen (Abb. 65.2).**

### Untersuchungsmaterial

Der Test wird mit Zitratplasma durchgeführt.

### Störgrößen

Unterhalb einer vWF-Konzentration von 5% ist eine valide Bestimmung nicht möglich.

### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

Kommerzielle Testsysteme sind derzeit nicht erhältlich. Daher sollten die laboreigenen Tests entsprechend den ICH-Richtlinien validiert werden.

### Bewertung

Die vWF:FVIIIB ist unverzichtbar in der Diagnostik der vWE Typ 2N. Die Ratio FVIIIC zu vWF-Antigen ist unspezifisch, da auch die Hämophilie A und die erworbene Hämophilie A eine stark verminderte Ratio aufweisen.

## 65.7 Von-Willebrand-Faktor-Multimere

### Indikationen

Die vWF-Multimeranalyse wird zur Typisierung einer angeborenen oder erworbenen vWE eingesetzt. Auch bei anderen Krankheiten, bei denen der vWF eine Rolle spielt, wie z. B. TTP (thrombotisch-thrombozytopenische Purpura) und HUS (hämolytisch-urämisches Syndrom) können wichtige Informationen erhalten werden (Budde et al. 2008).

### Testprinzip

**Zur vWF-Multimeranalyse werden die vWF-Oligomere in einem großporigen Agarosegel elektrophoretisch aufgetrennt (Ruggeri u. Zimmerman 1980). Danach werden die Banden direkt im Gel oder nach Transfer auf eine Membran mit einem vWF-Antikörper dargestellt und qualitativ und/oder quantitativ ausgewertet.**

Aufgrund der Größe der vWF-Multimere von zum Teil mehr als 20.000 kDa ist nur eine großporige Agarose zur Auftrennung geeignet. Die zu untersuchende Probe wird im SDS-haltigen Puffer verdünnt und erhitzt. Die dadurch hervorgerufene Zerstörung nicht kovalenter Bindungen erlaubt die Trennung nach dem Molekulargewicht ohne Einfluss der Tertiärstruktur. Anschließend erfolgt die Detektion der aufgetrennten vWF-Multimere. Hier wird die radioaktive Detektion zunehmend verlassen. Durch Transfer auf geeignete Membranen (Nitrozellulose oder Nylon)

wird die Handhabung deutlich vereinfacht. Allerdings erfordert der vWF wegen seiner enormen Größe spezielle Vorkehrungen, um die physiologisch wichtigen großen Multimere möglichst quantitativ zu transferieren.

Es existieren Beschreibungen aller gängigen Techniken: Diffusion, Vakuum-Blot, »Semi-dry-Blot« und Elektrotransfer. Die Visualisierung der transferierten vWF-Multimere erfolgt mit einem Antikörper-Lumineszenz-System (Budde et al. 1990).

Die Gelsysteme werden in niedrig auflösend, mittelhoch und hoch auflösend unterteilt. Je größer die Auflösungsfähigkeit ist, desto besser werden die proteolytischen Subbanden dargestellt. Allerdings werden in Gelen hoher Auflösungsfähigkeit die großen Multimere nur schlecht aufgetrennt. Diese sind in niedrig auflösenden Gelen am besten darzustellen. Hier kann sehr gut zwischen Proben mit einem Verlust der großen Multimere, supranormalen Multimeren oder einem normalen Bild differenziert werden. Dagegen fallen Strukturdefekte hier kaum auf. Um diese darzustellen, werden Gele mittlerer oder hoher Auflösungsfähigkeit verwandt. Für uns sind Gele mittlerer Auflösungsfähigkeit die Standardgele, da hier neben der ausreichend guten Darstellung der großen Multimere Strukturdefekte so gut erkannt werden, dass Gele noch höherer Auflösungsfähigkeit nur sehr selten notwendig sind (Abb. 65.3).

### Messgröße und Befundmitteilung

Neben der qualitativen Beurteilung ist eine quantitative Auswertung der Banden möglich und erstrebenswert. Häufig wird die Einteilung wie folgt vorgenommen (Abb. 65.4):

- 1–5 Oligomere = kleine Multimere,
- 6–10 Oligomere = mittelgroße Multimere und
- >10 Oligomere = große Multimere.

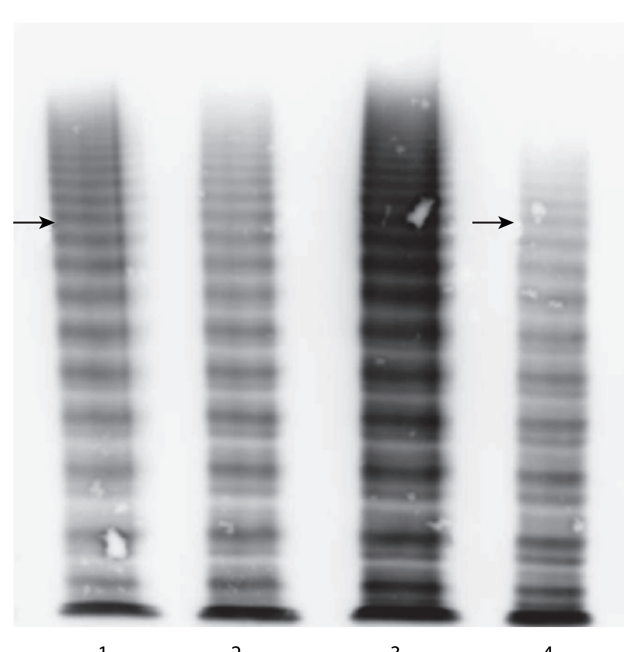
Bei vWF-Konzentrationen unter 5% ist die Grenze der Sensitivität erreicht. Spezifische Muster können bei diesen Konzentrationen kaum mehr erkannt werden. Kryopräzipitate können hier Abhilfe schaffen. Bei einer angeborenen vWE kann in vielen Fällen ein klares Muster erkannt werden, das Hinweise auf die betroffene Region des vWF-Gens gibt.

### Untersuchungsmaterial

Die Multimere des vWF können im Zitratplasma, EDTA-Plasma und im Serum untersucht werden. Jedoch existieren die meisten Daten für Zitratplasma. Für einige Fragestellungen werden spezielle Inhibitoren oder Inhibitor-Cocktails verwandt (z. B. EDTA, Leupeptin und Aprotinin).

### Störgrößen

Folgende Störeinflüsse sind möglich und müssen beachtet werden:



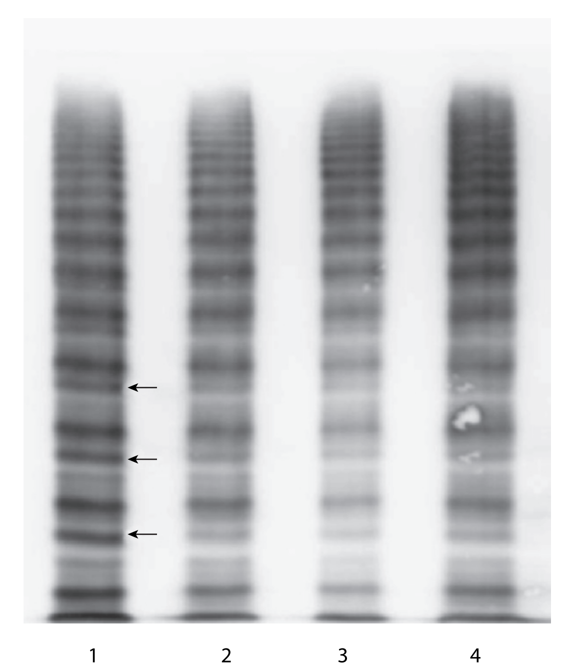




**Abb. 65.3.** vWF-Mulitmeranalyse. Das Trennverhalten der vWF-Multimere ist abhängig von der Gelkonzentration. Gegenübergestellt sind ein Gel mit niedriger Auflösungsfähigkeit und ein Gel mittlerer Auflösungsfähigkeit. Die Laufrichtung ist von oben nach unten, d. h. die großen Multimere befinden sich im oberen Anteil. Im Gel mittlerer Auflösungsfähigkeit ist die Tripletstruktur zu erkennen (dünne Pfeile), im Gel mit niedriger Auflösungsfähigkeit lässt sich die Gesamtzahl der Multimere besser darstellen. Die Großen Pfeile markieren die Grenze zwischen hoch- und mittelmolekularen Multimeren. Dargestellt sind 4 verschiedene Plasmaproben

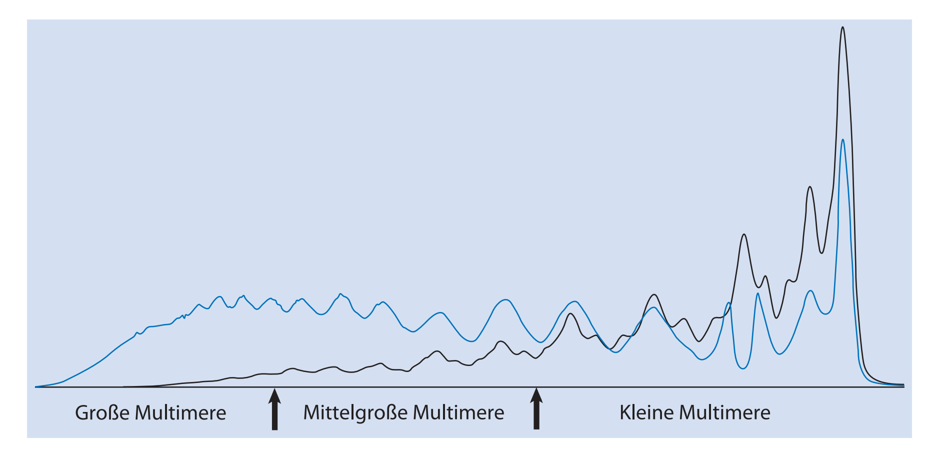



**Abb. 65.4.** Densitometrische Darstellung der vWF-Multimere in einem niedrig auflösenden Gel. Die großen Multimere befinden sich im linken Anteil. *Blau* Normalplasma; *Schwarz* Typ-2A-Plasma. Der linke Pfeil markiert die Grenze zwischen den großen und mittelgroßen Multimeren; der rechte Pfeil markiert die Grenze zwischen den mittelgroßen und kleinen Multimeren

- zu geringe Verdünnung,
- die unspezifische In-vitro-Proteolyse bei Lagerung im Kühlschrank und in hämolytischen Proben.

### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

In Gelen niedriger Auflösungsfähigkeit sollten 15 Banden abgrenzbar sein. Danach ist die Grenze der Auflösungsfähigkeit einzelner Banden erreicht. In Gelen höherer Auflösungsfähigkeit sollte die Tripletstruktur erkennbar sein.

Kommerzielle Testsysteme existieren derzeit nicht. Daher sollten die laboreigenen Tests entsprechend den ICH-Richtlinien (ICH Guidelines) validiert werden. Plasmen von Patienten mit definierten Subtypen des vWE können als Referenzpräparationen dienen. Es wurden kürzlich mehrere internationale Ringversuche mit dem Ziel einer Standardisierung durchgeführt. Auch ist die Multimeranalyse seit kurzem im Programm von Ringversuchen auf europäischer Ebene verfügbar.

### Bewertung

Bei Patienten mit Verdacht auf eine vWE dient die Multimeranalyse zur Typisierung, in einigen Fällen aber auch der Sicherung der Diagnose, v. a. bei Patienten mit Typ 2M. Sie ist hier ein unverzichtbarer Test. Auch bei anderen Krankheiten, bei denen der vWF eine Rolle spielt, wie z. B. TTP und HUS, können wichtige Informationen erhalten werden.

## 65.8 Von-Willebrand-Faktor-Propeptid

### Indikationen

Zwischen dem vWF-Antigen und dem Von-Willebrand-Faktor-Propeptid (vWFpp) besteht im Plasma ein äquimolares Verhältnis. Kommt es zu einer Veränderung der Eliminationskinetik des vWF-Antigens verschiebt sich dieses Verhältnis. Durch die Messung der Ratio vWFpp zu vWF-Antigen können daher Patienten mit kurzer Halbwertszeit des vWF erfasst werden.

### Testprinzip

Detektiert wird das gebundene vWFpp mit spezifischen Antikörpern im ELISA-Format (van Genderen et al. 1994). Ein kommerzieller Test ist verfügbar. Im ersten Schritt wird das vWFpp mittels Antikörper immobilisiert. Danach erfolgt eine Quantifizierung des gebundenen vWFpp mit einem zweiten enzymmarkierten Antikörper.

### Messgröße und Befundmitteilung

Die vWFpp-Konzentration wird anhand eines mitgeführten Standards in % oder U/dl angegeben. Es existiert jedoch derzeit kein WHO-Standard, an dem dieser Standard kalibriert werden kann.

### Untersuchungsmaterial

Die Messungen werden im Zitratplasma durchgeführt.

### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

Für den kommerziellen Test wird ein Referenzbereich für das vWFpp von 55–219 U/dl angegeben. Eine AB0-Blutgruppenabhängigkeit besteht nicht. Die Ratio aus vWF-pp und vWF-Antigen liegt bei 0,54–1,98. Externe Qualitätskontrollen werden derzeit nicht angeboten.

### Bewertung

Eine erhöhte Ratio gibt einen Hinweis auf eine deutlich verkürzte Halbwertszeit von stimuliertem (Desmopressin) oder infundiertem (Konzentrate) vWF.

## 65.9 Molekulargenetik

### Indikationen

Entsprechend der Lokalisation der Mutationscluster lassen sich bei bestimmten Subtypen der vWE gezielt begrenzte Regionen des Gens untersuchen. Dies ist für eine rationelle Gendiagnostik von Bedeutung, da das vWF-Gen mit 52 Exons und seiner Größe ansonsten nur aufwendig zu untersuchen ist. Voraussetzung für die molekulare Diagnostik ist daher immer eine vorherige phänotypische Charakterisierung mittels herkömmlicher hämostaseologischer Methoden. Die Gendiagnostik kann dann die Verdachtsdiagnose bestätigen.

**! Die Gendiagnostik ist notwendige Grundlage für die genetische Beratung v. a. beim schweren vWE Typ 3, da heterozygote, klinisch nicht betroffene Genträger zuverlässig nur über die Gendiagnostik identifizierbar sind.**

### Testprinzip

Methodisch kommen alle Techniken der Gendiagnostik zum Einsatz. Zum Nachweis großer Deletionen wurde früher der Southern Blot mit Autoradiographie und anschließender densitometrischer Gendosisbestimmung eingesetzt. In seltenen Fällen wie unbekannten Inversionen, Duplikationen und komplexeren Genrearrangements hat er auch heute noch seinen Stellenwert. Allerdings werden zunehmend quantitative PCR-Verfahren mit anschließender Gendosisanalyse, z. B. mittels denaturierender HPLC, durchgeführt, mit der die Bruchpunkte der Deletion zunächst annähernd bestimmt werden. Mit diesen Informationen können dann bruchpunktüberspannende PCR-Primer für die Durchführung einer deletionsspezifischen PCR ausgewählt werden.

Für Polymorphismen des vWF-Gens erscheinen Patienten mit heterozygoten großen Deletionen homozygot. Auf die Deletion lässt sich bei Verfügbarkeit der Eltern des Patienten auch durch scheinbares Nichtübereinstimmen der Haplotypen schließen. Punktmutationen, kleine Deletionen und Insertionen werden mittels PCR und direkter Sequenzierung mittels Kapillarelektrophorese identifiziert.

### Messgröße und Befundmitteilung

Gendosisbestimmung: »area under the curve« im Verhältnis zu einem Referenz-PCR-Produkt.

Punktmutationen: qualitative Auswertung des Elektropherogramms visuell und elektronisch.

Die Befundmitteilung erfolgt durch Beschreibung der gefundenen Mutation(en) als Nukleotidaustausch und ggf. als Aminosäureaustausch mit Interpretation des Ergebnisses.

65

### Untersuchungsmaterial

Untersuchungsmaterial ist antikoaguliertes Vollblut (vorzugsweise EDTA, Zitrat und Heparin ebenfalls möglich).

### Störgrößen

Neben präanalytischen Störgrößen (Probenqualität) können problematische Genregionen und das vWF-Pseudogen zu Störungen führen.

### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

Es werden Negativ- und Positivkontrollen mitgeführt.

### Bewertung

Bei bereits als kausal beschriebenen Mutationen (VWF mutation database: www.vwf.group.shef.ac.uk) bestätigt der Mutationsnachweis die Diagnose einer vWE.

Im Fall von noch nicht vorbeschriebenen Mutationen gelten folgende Bewertungskriterien:

- relativ sicherer Befund bei trunkierenden Mutationen (Nonsense-, Splice-Mutationen, Deletionen, Insertionen),
- wahrscheinlich kausal bei Missense-Mutationen, die offensichtlich die Funktion und/oder die Struktur des Proteins verändern können,
- fraglicher Befund bei Missense-Mutationen und intronischen Mutationen, deren Relevanz nicht erkennbar ist.

## 65.10 Antikörper gegen den vWF

### Indikationen

Der Verdacht auf das Vorliegen eines vWF-Autoantikörpers besteht bei Patienten mit einer vWE-typischen hämorrhagischen Diathese, die spontan bei bis dahin gerinnungsgesunden Patienten auftritt (Mannucci u. Mari 1984; Zettervall u. Nilsson 1978). Bei Patienten mit einer vWE Typ 3 treten Alloantikörper wesentlich seltener auf als bei Patienten mit einer schweren Hämophilie A. Für das Vorliegen eines Alloantikörpers spricht ein schlechtes Ansprechen auf eine Faktorensubstitution und Unverträglichkeiten bis hin zur Schocksymptomatik.

### Testprinzip

#### Indirekte Methoden

Das Ansprechen der vWF-Parameter und deren Halbwertszeit nach Therapie mit Faktorenkonzentraten oder Desmopressin bzw. nach der Gabe von hoch dosierten Immunglobulinen geben wichtige Hinweise auf das mögliche Vorliegen eines Antikörpers. Auch eine erhöhte Ratio vWF-Propeptid zu vWF-Antigen spricht für einen Antikörper, wenn eine angeborene hämorrhagische Diathese ausgeschlossen wurde.

### Direkte Methoden

Anwendung finden Tests in Analogie zum Bethesda-Test für die Erfassung von FVIII-Hemmkörpern (Kollagenbindungsaktivität; Ristocetin-Kofaktoraktivität; vWF-Aktivität, vWF-Antigen). Wiederholt beschrieben wurde auch die direkte Bindung von vWF-Antikörpern an immobilisierten vWF (ELISA).

**ELISA-Test.** Im ersten Schritt wird gereinigter vWF in einer Mikrotiterplatte immobilisiert. Geeignet sind plasmatischer vWF (z. B. vWF-haltige Konzentrate) oder rekombinanter vWF. Das Testplasma wird in mindesten 2 Verdünnungen auf die Platte pipettiert. Nach einer definierten Inkubationszeit und den notwendigen Waschschritten werden die vWF-Antikörper mit einem Sekundärantikörper nachgewiesen.

**Funktioneller Nachweis.** (Analog zum Bethesda-Test.) Das Material wird in verschiedenen Verdünnunen mit einem Normalplasma gemischt und unter definierten Bedingungen inkubiert. Eine Inkubation für 30 min bei Raumtemperatur sollte alle Antikörper erfassen. Zusammen mit dieser Probe werden die Referenzprobe, die positive und die negative Kontrolle inkubiert. Anschließend werden die gewählten Tests in üblicher Weise abgearbeitet.

### Messgröße und Befundmitteilung

Im ELISA-Test wird die Extinktion gemessen und mit denen der mitgeführten negativen und positiven Kontrollproben verglichen. Die Methoden analog zum Bethesda-Test messen die Restaktivität des zu untersuchenden Parameters in Bezug auf den mitgeführten Standard. Der Titer des Antikörpers wird analog dem Bethesda-Test ausgerechnet.

### Untersuchungsmaterial

Es können sowohl Serum als auch Zitratplasma verwendet werden.

### Störgrößen

Als Störgrößen treten die zum jeweiligen Testsystem gehörigen Interferenzen auf.

### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

Als negativ gilt für den ELISA-Test die optische Dichte der negativen Kontrolle zuzüglich des 3-fachen der Standardabweichung. Analog der Bestimmung für FVIII-Inhibitoren gelten alle Werte <0,6 BE als negativ.

Die Qualitätssicherung erfolgt durch das laboreigene Qualitätssicherungssystem. Da die Verfügbarkeit positiver Patientenproben extrem limitiert ist, bleibt nur die Eigenherstellung mittels eines Antikörpers von immunisierten Tieren, der einem Normalplasma zugesetzt wird. Externe Qualitätskontrollen werden derzeit nicht angeboten.

### Bewertung

Patienten mit einem Alloantikörper fallen klinisch durch ein schlechtes Ansprechen auf die Therapie mit Faktorenkonzentraten auf. Die Antiköpertests dienen hier lediglich einer Bestätigung der meist schon klinisch gestellten Diagnose.



**Bei Patienten mit erworbener vWE ist das Ergebnis der Antikörpertestung oft negativ, auch wenn die Klinik und Therapieversuche eindeutig für einen Antikörper sprechen.**

## 65.11 Von-Willebrand-Faktor-spaltende Protease (ADAMTS13)

### 65.11.1 ADAMTS13-Aktivität

### Indikationen

Die Untersuchung erfolgt bei Verdacht auf das Vorliegen eines angeborenen oder erworbenen ADAMTS13-Mangels bei Patienten mit Verdacht auf thrombotische Mikroangiopathien.

### Testprinzip

Das Substrat ist vWF. Die Enzymaktivität des ADAMTS13 kann über die Hydrolyserate des Substrats erfasst werden. In verschiedenen Testsystemen können vWF oder vWF-Fragmente als Substrat eingesetzt werden. Methoden, die Endothelzellen in die Diagnostik einbeziehen und dadurch dem physiologischen Reaktionsablauf eher entsprechen, sind zurzeit in Entwicklung.

### Messung der Aktivität von ADAMTS13 mit Wildtyp-vWF

Im Jahr 1996 publizierten Furlan und Mitarbeiter ein Nachweisverfahren, das Kryopräzipitat als Substrat einsetzt (Furlan et al. 1996). Der vWF kann in vitro von der Protease nicht gespalten werden, daher muss er in eine Form mit frei zugänglichen Spaltstellen überführt (denaturiert) werden. Eine präanalytische Aktivierung des ADAMTS13 wird durch $BaCl_2$ erreicht.

Die vWF-Hydrolyse kann durch verschiedene Verfahren nachgewiesen werden. Geeignet sind die vWF-Multimeranalyse (Abb. 65.5), die Kollagenbindungsaktivität, Ristocetin-Kofaktoraktivität oder ein modifiziertes ELISA-Verfahren. Durch eine mitgeführte Verdünnungsreihe von definierten Proben wird der Test semiquantitativ.

### Messung der Aktivität von ADAMTS13 mit vWF-Fragmenten

Es bietet sich an, den komplexen vWF durch ein kleineres Fragment zu ersetzen, das die ADAMTS13 Spaltstelle enthält. Das kleinste verfügbare Substrat erstreckt sich über 73

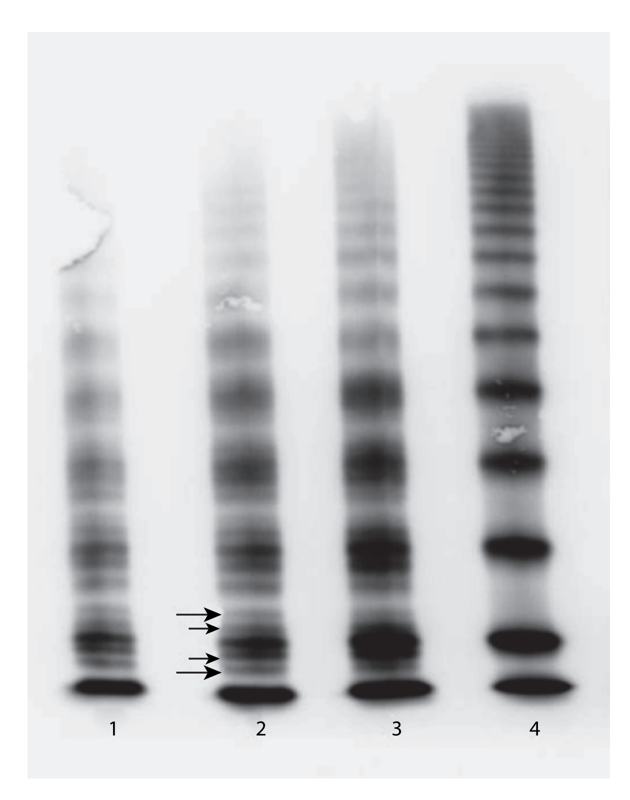



**Abb. 65.5.** Nachweis der vWF-Hydrolyse durch ADMATS13 in der Multimeranalyse. Mit zunehmender Konzentration von ADAMTS13 kommt es zu einer Abnahme der großen Multimere. Gleichzeitig kommt es zur Ausbildung der charakteristischen Triplettstruktur. Während die Zentralbande ihre Position nicht ändert, kommt es zunächst zur Ausbildung der inneren Subbanden (kleine Pfeile), die mit zunehmender Konzentration der ADMATS13 auf Kosten der äußeren Subbanden (große Pfeile) langsam abnehmen

Aminosäuren von D1.596 bis R1.668 (Kokame et al. 2005). Ein einfaches Messprinzip wurde dadurch ermöglicht, dass Kokame und Mitarbeiter die Aminosäuren Q1.599 und N1.610 so modifizierten, dass sie als Fluorogen und Quencher fungieren. Sobald das vWF-Fragment durch ADAMTS13 gespalten wird, kommt es zu einer Fluoreszenz des Substrats, weil der Quencher abgespalten wird (»fluorescent resonance energy transfer«, FRET). Dadurch lässt sich die ADAMTS13 Aktivität in einem Fluorometer ohne denaturierende Substanzen messen. Zum optimalen Funktionieren der Methode sind jedoch unphysiologisch niedrige Salzkonzentrationen und die Aktivierung durch bivalente Kationen ($Ca^{++}$) erforderlich.

Das Substrat wird kommerziell vertrieben. Allerdings stören Bilirubin und Hämoglobin die Messung. Deswegen wurde eine Variante entwickelt, in der die ADAMTS13 in einem vorgeschalteten Schritt zunächst mit einem monoklonalen Antikörper immobilisiert wird.



### Messgröße und Befundmitteilung

Messgröße ist die ADAMTS13-Aktivität gemessen in % der Referenzpräparation.

### Untersuchungsmaterial

Sowohl Serum als auch Zitratplasma sind geeignet. Die ADAMTS13-Aktivität ist im Serum bei 37°C für mehr als 14 Tage stabil, unter den gleichen Bedingungen fällt die Aktivität im Plasma nach 3 Tagen um etwa 10% ab. Somit ist ein Transport bei Raumtemperatur möglich.

### Störgrößen

EDTA zerstört die Protease irreversibel und kann daher das Fehlen von ADAMTS13 sowie einen Antikörper vortäuschen. Den Original-FRETS-Test stören Hämoglobin und Bilirubin. Hier können Verminderungen bis hin zu Werten unter 10% vorgetäuscht werden. Daher ist dieser Test für die Routinediagnostik nicht geeignet.

### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

Die Referenzwerte sind methodenabhängig. Mit den derzeit bekannten Methoden können Aktivitäten unter 1% nicht sicher gemessen werden. Die Qualitätssicherung erfolgt durch das laboreigene Qualitätssicherungssystem. Externe Qualitätskontrollen werden derzeit nicht angeboten.

Es haben bisher 2 internationale Ringstudien stattgefunden. Eine Goldstandardmethode kristallisierte sich dabei nicht heraus. Fazit beider Ringversuche war, dass ADAMTS13 Mangelzustände und starke Hemmkörper mit ausreichender Sicherheit erfasst werden können.

### Bewertung

Werte unter 5% gelten als spezifisch für eine TTP. Dies bedeutet jedoch nicht, dass diese Patienten klinisch auffallen. Selbst nicht mehr messbare Aktivitäten können über Monate toleriert werden, bis es durch einen zweiten »Hit« zum Ausbruch der TTP kommt. Ob milde Verminderungen oder zu hohe Aktivitäten klinische Relevanz haben, ist bisher nicht geklärt.

## 65.11.2 ADAMTS13-Antigen

### Indikationen

Die Untersuchung erfolgt bei Verdacht auf das Vorliegen eines angeborenen oder erworbenen ADAMTS13-Mangels bei Patienten mit Verdacht auf thrombotische Mikroangiopathien.

### Testprinzip

Die Methode zur Bestimmung des ADAMTS13-Antigens ist ein Sandwich-ELISA. Das ADAMTS13-Antigen der zu untersuchenden Probe wird von dem an eine geeignete

Oberfläche (Mikrotiterplatte) gebundenen monoklonalen oder polyklonalen Antikörper extrahiert und anschließend mittels eines enzymmarkierten Antikörpers gegen ADAMTS13 detektiert.

#### Messgröße und Befundmitteilung

Messgröße ist das ADAMTS13 Antigen gemessen in % der Referenzpräparation.

#### Untersuchungsmaterial

Sowohl Serum als auch Zitratplasma sind geeignet. Ein Transport in gefrorenem Zustand ist nicht erforderlich.

#### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

Der Referenzbereich liegt zwischen 60 und 120%. Die Messgrenze liegt bei 1%. Die Qualitätssicherung erfolgt durch das laboreigene Qualitätssicherungssystem. Externe Qualitätskontrollen werden derzeit nicht angeboten.

#### Bewertung

Die klinische Relevanz des ADAMTS13-Antigens ist schlechter belegt, als die der Aktivität. Patienten mit schwerem Krankheitsverlauf scheinen häufiger nicht nachweisbare ADAMTS13-Plasmaspiegel und -Aktivitäten aufzuweisen.

### 65.11.3 Antikörper gegen ADAMTS13

#### Indikationen

Die Untersuchung erfolgt bei Verdacht auf das Vorliegen eines angeborenen oder erworbenen ADAMTS13-Mangels bei Patienten mit Verdacht auf thrombotische Mikroangiopathien.

#### Testprinzip

**Funktionelle Tests.** Zunächst wird analog des Bethesda-Tests für Gerinnungsfaktoren ein Gemisch aus Normalplasma und hitzeinaktiviertem Patientenplasma für eine definierte Zeit inkubiert. Anschließend wird die Restaktivität in einem funktionellen Assay ermittelt. Um restliche ADAMTS13-Aktivität aus dem Patientenplasma zu entfernen, wird eine Hitzeinaktivierung vorgenommen (40 min bei 56°C). Anschließend wird analog zum Bethesda-Test für Gerinnungsfaktoren ein Gemisch aus Normalplasma und Patientenplasma für eine definierte Zeit (z. B. 30 min bei 37°C) inkubiert und die Restaktivität in einem funktionellen Assay ermittelt.

**Antikörpertests.** Die Antikörpertests erfassen humane IgG-Antikörper gegen ADAMTS13. Diese Antikörper können entweder die Funktion von ADAMTS13 hemmen und/oder ADAMTS13 vorschnell aus dem Blut eliminieren. Rekombinanter ADAMTS13 wird als Antigen auf einer Mikrotiterplatte immobilisiert. Nach Inkubation mit der Plasmaprobe werden gebundene Antikörper mittels eines IgG-spezifischen Antikörpers detektiert.

#### Messgröße und Befundmitteilung

Die Befundmitteilung erfolgt in Bethesda-Einheiten bzw. beim direkten Antikörpernachweis in U/ml.

#### Untersuchungsmaterial

Beide Testprinzipien funktionieren im Plasma und im Serum.

#### Störgrößen

Im ELISA-Test können Proben mit hohen Konzentrationen anderer Autoantikörper schwach positive Ergebnisse liefern.

#### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

Als negativ gilt für den funktionellen Test ein Titer von <0,5 BE. Die Qualitätssicherung erfolgt durch das laboreigene Qualitätssicherungssystem. Externe Qualitätskontrollen werden derzeit nicht angeboten.

#### Bewertung

Bei Patienten mit Verdacht auf thrombotische Mikroangiopathien (primäre und sekundäre TTP, HUS, Coombs-negative Hämolysen mit intermittierender Thrombozytopenie) dient der Test zur Identifizierung derjenigen Patienten, bei denen Antikörper gegen ADAMTS13 vorliegen. Es gibt Hinweise, dass Antikörper in vivo dazu führen, dass nicht proteolysierter vWF zirkuliert und eine TTP auslösen kann, auch wenn die ADAMTS13-Aktivität normal oder nur leicht vermindert gemessen wird.

> **! Patienten mit hohen Antikörpertitern haben nicht selten kompliziertere Verläufe als die mit niedrigen Titern. Wenn die Antikörper nach klinischer Remission persistieren, sind rezidivierende Verläufe möglich.**

### 65.11.4 Molekulargenetik des ADAMTS13-Mangels

#### Indikationen

Größtenteils ist der schwere ADAMTS13-Mangel durch Antikörper bedingt. Die hereditäre Form beruht auf ADAMTS13-Mutationen und wird Upshaw-Schulman-Syndrom genannt. Die Mutationen sind über das gesamte Gen verteilt. Größtenteils beschränken sie sich auf einzelne Familien, allerdings ist die Mutation 4143insA – eine Foundermutation – in der zentral- und nordeuropäischen Bevölkerung besonders häufig. Auch die Missense-Mutation

R1060W findet sich in Europa gehäuft und ist interessanterweise zusätzlich mit dem Auftreten von inhibitorischen Antikörpern assoziiert. Die Gendiagnostik ist bei unklarem phänotypischem Befund (fraglicher oder fehlender Nachweis von Antikörpern gegen ADAMTS13) und als Basis für die genetische Beratung bei der hereditären Form indiziert.

**! Die Unterscheidung zwischen der erworbenen und der hereditären Form ist therapeutisch von erheblicher Bedeutung.**

### Testprinzip

In der Regel erfolgt die Gendiagnostik mittels PCR und direkter Sequenzierung durch Kapillarelektrophorese (größere Deletionen oder Insertionen, komplexe Rearrangements).

### Messgröße und Befundmitteilung

Die qualitative Auswertung des Elektropherogramms erfolgt visuell und elektronisch. Die Befundmitteilung erfolgt mittels Beschreibung der gefundenen Mutation(en) als Nukleotidaustausch und ggf. als Aminosäureaustausch mit Interpretation des Ergebnisses.

### Untersuchungsmaterial

Antikoaguliertes Vollblut eignet sich (vorzugsweise EDTA, Zitrat, Heparin ebenfalls möglich).

### Störgrößen

Präanalytisch (Probenqualität), problematische Genregionen.

### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

Negativ- und Positivkontrollen werden mitgeführt.

### Bewertung

Ist die Mutation bereits als kausal vorbeschrieben, bestätigt der molekulargenetische Befund das Vorliegen eines ADAMTS13-Mangels.

Bei noch nicht beschriebenen Mutationen gelten folgende Bewertungskriterien:

- relativ sicherer Befund bei trunkierenden Mutationen (Nonsense-, Splice-Mutationen, Deletionen, Insertionen),
- wahrscheinlich kausal bei Missense-Mutationen, die offensichtlich die Funktion und/oder die Struktur des Proteins verändern können,
- fraglicher Befund bei Missense-Mutationen und intronischen Mutationen, deren Relevanz nicht erkennbar ist.



## Literatur


Cejka J (1992) Enzyme immunoassay for factor VIII-related antigen. Clin Chem 28: 1356–1358

Brown JE, Bosak JO (1986) An ELISA test for the binding of von Willebrand factor antigen to collagen.Thromb Res 43: 303–311

Budde U, Schneppenheim R, Plendl H, Dent J, Ruggeri ZM, Zimmerman TS (1990) Luminographic detection of von Willebrand factor multimers in agarose gels and on nitrocellulose membranes. Thromb Haemost 63: 312–315

Budde U, Schneppenheim R, Eikenboom J et al. (2008) Detailed von Willebrand Factor Multimer Analysis in Patients with von Willebrand Disease in the European Study, Molecular and Clinical Markers for the Diagnosis and Management of Type 1 von Willebrand Disease (MCMDM-1VWD). J Thromb Haemost 6(11): 2002–2003

Fricke W, Brinkhous KM, Garris JB, Roberts HR (1985) Comparison of inhibitory and binding characteristics of an antibody causing acquired von Willebrand syndrome: an assay for von Willebrand binding by antibody. Blood 66: 562–569

Furlan M, Robles R, Lämmle B (1996) Partial purification and characterization of a protease from human plasma cleaving von Willebrand factor to fragments produced by in vivo proteolysis. Blood 87: 4223–4234

Kokame K, Nobe Y, Kokubo Y, Okayama A, Miyata T (2005) FRETS-VWF73, a first fluorogenic substrate for ADAMTS13 assay. Br J Haemat 129: 93–100

Macfarlane DE, Stibbe J, Kirby EP, Zucker MB, Grant RA, McPerson J (1975) A method for assaying von Willebrand factor (ristocetin cofactor). Thromb Diath Haemorrh 34: 306–308

Mannucci PM, Mari D (1984) Antibodies to factor VIII/von Willebrand factor in congenital and acquired von Willebrand's disease. Prog Clin Biol Res 150: 109–22

Preston FE (1998) Assays for von Willebrand factor functional activity: a UK NEQAS survey (letter). Thromb Haemost 80: 866

Ruggeri ZM, Zimmerman TS (1980) Variant von Willebrand's disease. Characterization of two subtypes by analysis of multimeric composition of factor VIII/von Willebrand factor in plasma and platelets. J Clin Invest 65: 1318–1325

Scheiflinger F, Knöbl P, Trattner B, Plaimauer B, Mohr G, Dockal M, Dorner F, Rieger M (2003) Non-neutralizing IgM and IgG antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS-13) in a patient with thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP). Blood 102: 3241–3243

Schneppenheim R, Budde U, Oyen F et al. (2003) Von Willebrand factor cleaving protease and ADAMTS13 mutations in childhood TTP. Blood 101: 1845–1850

Thomas KB, Sutor AH, Zieger B et al. (1994) A simple test for the determination of the von Willebrand factor function: The collagen binding activity. Hämostaseologie 14: 133–139

Tsai HM (1996) Physiologic cleavage of von Willebrand factor by a plasma protease is dependent on its conformation and requires calcium ion. Blood 87: 4235–4244

van Genderen PJJ, Vink T, Michiels JJ, Vantveer MB, Sixma JJ, van Vliet HHDM (1994) Acquired von Willebrand disease caused by an autoantibody selectively inhibiting the binding of von Willebrand factor to collagen. Blood 84: 3378–3384

Vanhoorelbeke K, Cauwenbergs N, Vauterin S, Schlammadinger A, Mazurier C, Deckmyn H (2000) A reliable and reproducible ELISA method to measure Ristocetin Cofactor activity of von Willebrand factor. Thromb Haemost 83: 107–113

Veyradier A, Fressinaud E, Sigaud M, Wolf M, Meyer D (1999) A new automated method for von Willebrand factor antigen measurement using latex particles. Thromb Haemost 81: 320–321

Zettervall O, Nilsson IM (1978) Acquired von Willebrand's disease caused by monclonal antibody. Acta Med Scand 204: 521–528

# 66 Fibrinolysetests

*K. Madlener, B. Pötzsch*

## Einleitung

Die Gruppe der Fibrinolysetests bilden Verfahren, die einzelne Fibrinolysefaktoren oder die Funktionsfähigkeit des Fibrinolysesystems qualitativ oder quantitativ messen. In der Routinediagnostik werden Fibrinolysetests eingesetzt, wenn klinisch der Verdacht auf eine hyper- oder hypofibrinolytische Störung besteht. Ein routinetauglicher Gruppen- oder Globaltest, der die wesentlichen Fibrinolysekomponenten erfasst und als Screeningtest eingesetzt werden könnte, ist nicht verfügbar.

Bei Verdacht auf eine hyperfibrinolytische Störung erfüllt das Thrombelastogramm am ehesten die Kriterien eines Globaltests, weist aber eine geringe Sensitivität auf. Die Bestimmung der Plasminogenaktivität und der $\alpha_2$-Antiplasmin-Aktivität sind Routinemethoden, die bei Verdacht auf eine hereditäre oder erworbene Fibrinolysestörung eingesetzt werden. Die Fibrinolysediagnostik wird ergänzt durch Bestimmung des Fibrinogens, der D-Dimer-Konzentration und der FXIII-Aktivität. Testverfahren, mit denen eine Bestimmung der Plasminogenaktivatoren, der Plasminogenaktivatorinhibitoren und der Plasminogen-$\alpha_2$-Antiplasmin-Komplexe erfolgt, werden in wissenschaftlichen Untersuchungen eingesetzt und sind keine Routineparameter.

## 66.1 Einleitung

Die Fibrinolysediagnostik wird eingesetzt, um eine angeborene oder erworbene Störung des Fibrinolysesystems zu erkennen. Ein Globaltest, der die Funktionsfähigkeit des Fibrinolysesystems abbilden kann, existiert nicht. Die mit dieser Intention entwickelte Euglobulinlysezeit hat sich in der Routinediagnostik nicht durchgesetzt, weil sie in ihrer Durchführbarkeit technisch zu aufwendig ist und eine Automatisierung nicht möglich ist.

Auch die häufig als Gobaltest postulierte Thrombelastographie ist nicht ausreichend sensitiv, um eine Fibrinolysestörung nachzuweisen. Ein neuer Testansatz, der möglicherweise als Globaltest geeignet ist, wurde kürzlich publiziert (Rijken et al. 2008). In diesem Testverfahren wird durch Thrombinzugabe bereits während der Blutabnahme ein Gerinnsel erzeugt und anschließend die Fibrinolyserate in An- und Abwesenheit des Plasmininhibitors Aprotinin durch Bestimmung des Fibrindegradationsprodukts gemessen. Eine Validation in der klinischen Routine ist für diesen Test bisher jedoch noch nicht erfolgt.

Besteht der Verdacht auf das Vorliegen einer Fibrinolysestörung wird meist eine Bestimmung der Fibrinolyseparameter Plasminogen und $\alpha_2$-Antiplasmin durchgeführt. Ergänzend erfolgt eine Bestimmung des Fibrinogens, des D-Dimers und der Faktor-XIII-Aktivität. Bei Verdacht einer Hyperfibrinolyse erfolgt die Bestimmung eines Thrombelastogramms. Besteht der Verdacht auf das Vorliegen einer angeborenen Fibrinolysestörung können molekulargenetische Untersuchungen in Abhängigkeit von der Phänotypanalyse das Vorliegen einer hereditären Störung untermauern.

## 66.2 Euglobulinlysezeit

Die Euglobulinlysezeit (ELT) wurde 1948 von Macfarlane und Biggs mit dem Ziel entwickelt, die Aktivität des fibrinolytischen Systems global zu erfassen (Macfarlane u. Biggs 1948). Eine Zitratplasmaprobe wird durch Zugabe von kalter Essigsäure präzipitiert. Das Präzipitat enthält Fibrinogen, Plasminogen und die im Plasma vorhandenen Plasminogenaktivatoren, während die Plasminogenaktivatorinhibitoren fast nicht mitgefällt werden. Anschließend wird das Präzipitat gelöst und durch Zugabe von 0,025 mol/l Kalziumchlorid ein Fibrinogengerinnsel erzeugt. Anschließend wird die Zeit bis zur Auflösung des Fibringerinnsels während einer Inkubation bei 37°C gemessen (Copley et al. 1959).

Zur Interpretation der ELT-Werte wird meist ein Bewertungsmaßstab eingesetzt, der den Fibrinolysezeiten einen Punktwert zuordnet (Tab. 66.1; Glassman et al. 1993).

**Tab. 66.1.** Score zur Bewertung der Euglobulinlysezeit (nach Sié u. Steib 2006)

| ELT [min] | Punkte | Bewertung |
|---|---|---|
| >90 | 0 | Keine Hyperfibrinolyse |
| 60–90 | 1 | Milde Hyperfibrinolyse |
| 30–59 | 2 | Hyperfibrinolyse |
| 15–29 | 3 | Hyperfibrinolyse |
| 5–14 | 4 | Hyperfibrinolyse |
| <5 | 5 | Schwere Hyperfibrinolyse |

In der klinischen Routinediagnostik hat sich die Euglobulinlysezeit aufgrund der schwierigen Testhandhabung mit dem Fehlen einer Automatisierbarkeit und erheblichen Testvariabilitäten nicht durchgesetzt. In wissenschaftlichen Untersuchungen und klinischen Studien wird sie als Referenzmethode eingesetzt.

## 66.3 Fibrinolysethrombelastogramm

### Indikationen

Indikationen zur Durchführung der Thrombelastographieuntersuchung sind der Verdacht einer Hyperfibrinolyse und die Überwachung einer Fibrinolysetherapie. Eine mögliche weitere Indikation ist die Überwachung einer Therapie mit Antifibrinolytika.

### Testprinzip

Das Thrombelastogramm bildet die mechanische Stabilität des Gerinnsels ab. Eine nach erfolgter Gerinnselbildung einsetzende Fibrinolyse reduziert die Stabilität des Gerinnsels. Diese zeitabhängige Abnahme der Gerinnselstabilität ist ein Maß für die Fibrinolyseaktivität. Durch parallele Messungen in An- und Abwesenheit eines spezifischen Plasmininhibitors wie Aprotinin kann die Spezifität des Testverfahrens durch Bildung eines Fibrinolyseindex verbessert werden (Gallimore et al. 2005; Luddington 2005).

### Messgröße und Befundmitteilung

Messgröße ist die zeitabhängige Veränderung der Gerinnselfestigkeit, ausgedrückt als Amplitudenhöhe. Ausgehend von der maximalen Amplitudenhöhe wird in bestimmten Zeitabständen die Amplitudenhöhe ermittelt und der Abfall in Prozent bezogen auf die Maximalamplitude ausgedrückt. Zur Ermittlung des Fibrinolyseindex wird der im Aprotininansatz ermittelte Abfall der Gerinnselfestigkeit durch den im NaCl-Ansatz geteilt.

### Untersuchungsmaterial

Die Untersuchung erfolgt mit Vollblut, das mit Zitrat antikoaguliert wurde.

### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

Die Referenzbereiche werden laborspezifisch definiert. Der Fibrinolyseindex liegt bei gesunden Probanden meist zwischen 0,95 und 1. Zur internen Qualitätskontrolle sollten regelmäßig Blutproben von gesunden Probanden gemessen werden. Eine externe Qualitätskontrolle ist nur durch Laborvergleichsmessungen möglich.

### Störgrößen

Lange Transport- und Lagerungszeiten der Blutprobe können zu einer Inaktivierung der in der Blutprobe vorhandenen Plasminogenaktivatoren durch den Plasminogenaktivatorinhibitor führen.

### Bewertung

Ein pathologisch gemessener Hyperfibrinolyseindex ist beweisend für das Vorliegen einer Hyperfibrinolyse. Umgekehrt kann eine fehlende Einschränkung der Gerinnselfestigkeit eine Hyperfibrinolyse nicht ausschließen. Ursache ist die begrenzte Sensitivität des Testverfahrens.

## 66.4 Plasminogenaktivatoren und Plasminogenaktivatorinhibitoren

### Indikationen

In der Routinediagnostik von hämostaseologisch relevanten Fibrinolysestörungen wird die Bestimmung der Plasminogenaktivatoren (PA) und der Plasminogenaktivatorinhibitoren (PAI) nicht eingesetzt. Die Bestimmung dieser Parameter bleibt wissenschaftlichen Untersuchungen vorbehalten. In der Dignitätsbeurteilung von verschiedenen soliden Tumoren wie dem Mammakarzinom werden beide Parameter als prognostisch relevante Biomarker eingesetzt (Desotes et al. 2008).

### Testprinzip

**Plasminogenaktivatoren.** Zur Bestimmung der PA werden monoklonale und polyklonale Antikörper eingesetzt. Im Enzyme-Capture-Assay wird der Plasminogenaktivator über einen Fängerantikörper an eine Festphase gebunden und anschließend über die Bestimmung der enzymatischen Aktivität durch die Hydrolyserate eines Peptidsubstrats quantifiziert. Durch Verwendung eines Zweitantikörpers ist eine Bestimmung der Antigenkonzentration möglich.

**Plasminogenaktivatorinhibitor.** Die Bestimmung des PAI erfolgt mit einem funktionellen oder einem immunologischen Testverfahren. Zur funktionellen Bestimmung wird an einer Trägersubstanz gebundenes t-PA mit der Plasmaprobe inkubiert. Entsprechend der Konzentration an PAI in der Plasmaprobe bilden sich t-PA-PAI-Komplexe. Nach einem Waschschritt wird der Anteil an nicht komplexiertem, aktivem t-PA mit einem Peptidsubstrat oder über die Rate der Plasminogenaktivierung gemessen. Die t-PA-Aktivität ist umgekehrt proportional zur in der Plasmaprobe vorhandenen PAI-Konzentration. Die immunologischen Verfahren messen die PAI-Konzentration mit monoklonalen und polyklonalen Antikörpern.

### Messgröße und Befundmitteilung

Die Messgröße ist abhängig von der eingesetzten Testkonfiguration. Im ELISA-Verfahren wird die Änderung der optischen Dichte oder die Generierung eines Fluoreszenz-

signals gemessen, während in funktionellen Testverfahren der Substratumsatz gemessen wird. Eine standardisierte Einheit zur Befundübermittlung existiert nicht. Mit Standardnormalplasma oder mit gereinigten PA oder PAI kann eine Referenzkurve erstellt werden.

#### Untersuchungsmaterial

Das zur PA und PAI-Bestimmung verwendete Plasma muss mit einem Zitratantikoagulans mit einem niedrigen pH-Wert <4 (Stabilyte-Röhrchen) antikoaguliert werden (Ranby 1989). Zitratplasma ist zur Bestimmung der PA und PAI ungeeignet, da durch Bildung von PA-PAI-Komplexen nach der Blutabnahme eine Abnahme der Analytkonzentrationen auftreten kann. Die Blutabnahme mit einem ungeeigneten Antikoagulans ist die häufigste Störgröße in der PA- und PAI-Betimmung.

#### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

Die Erstellung der Referenzbereiche erfolgt laborspezifisch. Eine interne Qualitätskontrolle ist mit einem Standardnormalplasma und einem standardisierten pathologischen Plasma möglich. Eine externe Qualitätskontrolle ist durch Laborvergleichsmessungen möglich. Ringversuche werden nicht angeboten.

## 66.5 Plasminogen

#### Indikationen

Die Plasminogenbestimmung ist indiziert bei Patienten mit einem angeborenen oder erworbenen Plasminogenmangel und bei Verdacht einer Hyperfibrinolyse, beispielsweise im Rahmen einer Leberfunktionsstörung.

#### Testprinzip

Die funktionelle Bestimmung von Plasminogen basiert auf dem amidolytischen Nachweis von Plasminogen-Streptokinase-Komplexen (Friberger et al. 1978). Der Plasmaprobe wird Streptokinase im Überschuss zugesetzt, sodass das vorhandene Plasminogen komplett mit Streptokinase komplexiert wird. Dadurch wird das aktive Zentrum von Plasminogen auch ohne Aktivierung zu Plasmin für Peptidsubstrate zugänglich. Das ermöglicht die Bestimmung der Plasminogenkonzentration durch die Substratumsatzrate.

Aufgrund dieses Messprinzips wurde der Begriff der Plasminogenaktivität geprägt, auch wenn dieser Begriff nicht korrekt ist, da Plasminogen keine proteolytische Aktivität besitzt. Korrekt wird mit diesem Testverfahren die Konzentration an aktivierbarem Plasminogen erfasst.

Eine immunologische Bestimmung der Plasminogenkonzentration durch Verwendung von Antikörpern ist ebenfalls möglich.

#### Messgröße und Befundmitteilung

In der funktionellen Bestimmung ist die Messgröße die Hydrolyserate eines Peptidsubstrats, gemessen in Form einer Farbstofffreisetzung oder in der Generierung eines Fluoreszenzsignals. Anhand einer Referenzkurve mit Standardnormalplasma erfolgt eine Umrechnung in Prozentwerte.

#### Untersuchungsmaterial

Die Bestimmung erfolgt aus Zitratplasma.

#### Störgrößen

Das Vorliegen von Proteasen mit niedriger Spezifität kann zu falsch-hohen Plasminogenwerten führen. Umgekehrt werden bei Anwesenheit eines Plasmininhibitors wie Aprotinin im Plasma falsch-niedrige Werte gemessen. Werden chromogene Peptidsubstrate eingesetzt, ist eine Bestimmung in hämolytischen Plasmen nicht möglich.

#### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

Referenzbereiche werden durch Analysen von Plasmaproben eines für die Analytik repräsentativen Referenzkollektivs erstellt. Typischerweise liegen die Referenzwerte zwischen 70 und 120% bezogen auf ein Standardnormalplasma. Die interne Qualtitätskontrolle erfolgt durch ein Kontrollprobensystem, wobei die Plasmaproben Plasminogen in normaler und in niedriger Konzentration enthalten. Zur externen Qualitätskontrolle werden Ringversuche angeboten.

#### Bewertung

Erniedrigt gemessene Plasminogenwerte belegen einen angeborenen oder erworbenen Plasminogenmangel. Beim hereditären Plasminogenmangel liegen die Plasminogenaktivitäten in der Regel unter 50%. Zur Sicherung der Diagnose eines hereditären Plasminogenmangels sollten mindestens 2 unabhängig voneinander gewonnene Blutproben untersucht werden. Erhöhte Plasminogenaktivitäten sind ein Hinweis auf eine Plasminämie. Sie können bei Hyperfibrinolysen und systemischen Fibrinolysetherapien gemessen werden.

**! Im Referenzbereich liegende oder erniedrigte Plasminogenaktivitäten schließen eine Hyperfibrinolyse nicht aus. Besteht klinisch kein Hinweis auf eine Hyperfibrinolyse, sind erhöht gemessene Plasminogenaktivitäten ohne Bedeutung.**

## 66.6 $\alpha_2$-Antiplasmin

#### Indikationen

Die $\alpha_2$-Antiplasmin-Bestimmung ist indiziert bei Patienten mit dem Verdacht auf eine angeborene oder erworbene Hyperfibrinolyse.

### Testprinzip

Die Bestimmung der $\alpha_2$-Antiplasmin-Aktivität erfolgt mit einem indirekten Messprinzip, in dem die Inaktivierungsrate von exogen zugesetztem Plasmin gemessen wird (Friberger et al. 1978). Der Plasmaprobe wird eine definierte Konzentration an gereinigtem Plasmin zugesetzt und nach einer Inkubationsperiode die Menge an nicht inaktiviertem Plasmin durch die Umsatzrate eines Peptidsubstrats gemessen.

Eine immunologische Bestimmung der $\alpha_2$-Antiplasmin-Konzentration ist mit polyklonalen oder monoklonalen Antikörpern ebenfalls möglich, findet in der Routinediagnostik aber keine Anwendung.

### Messgröße und Befundmitteilung

Bei der funktionellen Bestimmung ist die Messgröße die Hydrolyserate eines Peptidsubstrats. Anhand einer Referenzkurve mit Standardnormalplasma erfolgt eine Umrechnung in Prozentwerte.

### Untersuchungsmaterial

Die Bestimmung erfolgt aus Zitratplasma.

### Störgrößen

Das Vorliegen von Proteasen mit niedriger Spezifität kann zu falsch-niedrigen $\alpha_2$-Antiplasmin-Aktivitätswerten führen. Umgekehrt werden bei Anwesenheit eines Plasmininhibitors wie Aprotinin im Plasma falsch-hohe Werte gemessen. Werden chromogene Peptidsubstrate eingesetzt, ist eine Bestimmung in hämolytischen Plasmen nicht möglich.

### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

Referenzbereiche werden durch Analysen von Plasmaproben eines für die Analytik repräsentativen Referenzkollektivs erstellt. Typischerweise liegen die Referenzwerte zwischen 70 und 120% bezogen auf ein Standardnormalplasma. Die interne Qualtitätskontrolle erfolgt durch ein Kontrollprobensystem, wobei die Plasmaproben $\alpha_2$-Antiplasmin in normaler und in niedriger Konzentration enthalten. Zur externen Qualitätskontrolle werden Ringversuche angeboten.

### Bewertung

Erniedrigt gemessene $\alpha_2$-Antiplasmin-Aktivitätswerte belegen einen angeborenen oder erworbenen $\alpha_2$-Antiplasmin-Mangel. Beim hereditären $\alpha_2$-Antiplasmin-Mangel können spontane Hyperfibrinolyseblutungen bei Werten $<30\%$ auftreten. Erhöhte $\alpha_2$-Antiplasmin-Aktivitätswerte haben keine klinische Relevanz.

## 66.7 Plasmin-$\alpha_2$-Antiplasmin-Komplexe

### Indikation

Die Inaktivierung von Plasmin durch $\alpha_2$-Antiplasmin führt zur Bildung von Plasmin-$\alpha_2$-Antiplasmin-(PAP-) Komplexen, die im Plasma mit einer Halbwertszeit von 4,5 h zirkulieren (Kang et al. 2005). Die Konzentration an PAP-Komplexen ist daher ein Maß für eine Plasminbildung mit anschließender Inaktivierung des Plasmins durch $\alpha_2$-Antiplasmin. Eine Indikation für die Bestimmung der PAP-Komplexe ist deswegen der Nachweis einer Plasminämie. Die langen Testlaufzeiten und eine zurzeit nicht belegte klinische Relevanz der PAP-Werte haben dazu geführt, dass die PAP-Bestimmung außerhalb von wissenschaftlichen Untersuchungen und klinischen Studien nicht eingesetzt wird.

### Testprinzip

Die Bestimmung der PAP-Komplexe erfolgt mit einem Antikörper, der ein Neoepitop des PAP-Komplexes erkennt, oder durch Kombination eines Plasminogenantikörpers mit einem $\alpha_2$-Antiplasmin-Antikörper. Dabei werden ein Antikörper zur Immobilisation des PAP-Komplexes und ein Antikörper zur Detektion eingesetzt.

### Messgröße und Befundmitteilung

Eine Referenzkurve wird mit gereinigten PAP-Komplexen erstellt. Die Analytgröße ist ng/ml.

### Untersuchungsmaterial

Die Bestimmung erfolgt aus Zitratplasma.

### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

Ein Referenzbereich wird laborintern erstellt. Ein typischer Referenzbereich liegt zwischen 160 und 600 ng/ml. Die interne Qualitätskontrolle erfolgt mit Kontrollproben. Eine externe Qualitätskontrolle ist durch Laborvergleiche möglich.

### Bewertung

Erhöhte PAP-Spiegel belegen eine verstärkte intravasale Generierung von Plasmin mit nachfolgender effektiver Inaktivierung durch $\alpha_2$-Antiplasmin. Deswegen sind erhöhte PAP-Spiegel nicht gleichbedeutend mit einer klinisch relevanten Hyperfibrinolyse. Erniedrigte PAP-Spiegel werden bei einem $\alpha_2$-Antiplasmin-Mangel gemessen und sind vereinbar mit einer Hyperfibrinolyse.

## 66.8 Thrombin-activalable fibrinolysis inhibitor (TAFI)

### Indikationen

In aktivierter Form ist TAFI eine Carboxypeptidase der B-Gruppe, die Lysin vom C-terminalen Ende der Fibrinpolymere abschneidet. Die dadurch ausgelöste verminderte Sensitvität gegenüber Plasmin erklärt den antifibrinolytischen Effekt von TAFI. Aktiviert wird TAFI durch den Thrombin-Thrombomodulin-Komplex. Der klinische Stellenwert von TAFI ist unklar. Deswegen gibt es außerhalb von wissenschaftlichen Untersuchungen und klinischen Studien keine Indikation zur TAFI-Bestimmung.

### Testprinzip

Zur funktionellen Bestimmung wird das in der Plasmaprobe vorhandene TAFI durch Zugabe von Thrombin-Thrombomodulin-Komplexen aktiviert (Frère et al. 2005). Eine Quantifizierung des aktivierten TAFI erfolgt über die Hydrolyserate eines chromogenen Peptidsubstrats. Dieses TAFI-Substrat ist so aufgebaut, dass es durch Spaltung seine Farbe verliert. Deswegen ist in dieser Testkonfiguration die Abnahme der optischen Dichte proportional zur TAFI-Aktivität.

Mit monoklonalen und polyklonalen Antikörpern ist eine immunologische Bestimmung von TAFI möglich.

### Messgröße und Befundmitteilung

Bei der funktionellen Bestimmung ist die Messgröße die Hydrolyserate eines Peptidsubstrats. Anhand einer Referenzkurve mit einem gereinigten TAFI-Standard erfolgt eine Umrechnung in Prozentwerte.

### Untersuchungsmaterial

Die Bestimmung erfolgt aus Zitratplasma.

### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

Für den funktionellen TAFI-Test wird in der Literatur ein Referenzwert von 50–150% angegeben (Frère et al. 2005). Eine interne Qualitätskontrolle erfolgt mit 2 Kontrollproben, die TAFI in physiologischer und niedriger Konzentration enthalten. Eine externe Qualitätskontrolle ist durch Laborvergleichstestungen möglich. Externe Ringversuche werden nicht angeboten.

### Bewertung

Die klinische Relevanz von erhöht oder erniedrigt gemessenen TAFI-Werten ist unklar.

### Literatur


Bos R, Revet M, Niewenhuizen W (1994) A Bio-immunoassay to determine free tissue-type plasminogen activator (t-PA) in Stabilyte plasma. Fibrinolysis 8: 163–165

Copley AL, Niewiarowski S, Marechel J (1959) A micro method of euglobulin fibrinolysis in plasma of human subjects and small laboratory animals. J Lab Clin Med 53: 468–473

Descotes R, Riche B, Saez S et al. (2008) Plasminogen activator inhibitor type 1 is the most significant of the usual tissue prognostic factors in node-negative breast ductal adenocarcinoma independent of urokinase-type plasminogen activator. Clin Breast Cancer 8: 168–177

Frère C, Morange PE, Saut N et al. (2005) Quantification of thrombin activalable fibrinolysis inhibitor (TAFI) gene polymorphism effects on plasma levels of TAFI measured with assays insensitive to isoform-dependent artefact. Thromb Haemost 94: 373–379

Friberger P, Knos M, Gustavsson S et al. (1978) Methods for determination of plasmin, antiplasmin and plasminogen by means of substrate S-2251. Haemostasis 7: 138–145

Gallimore MJ, Harris SL, Tappenden KA et al. (2005) Urokinase induced fibrinolysis in thrombelastography: a model for studying fibrinolysis and coagulation in whole blood. J Thromb Haemost 3: 2506–2513

Glassman A, Abram M, Baxter G et al. (1993) Euglobulin lysis times: an update. Ann Clin Lab Sci 23: 329–332

Kang HM, Kalnoski MH, Frederick M et al. (2005) The kinetics of plasmin inhibition by aprotinin in vivo. Thrombosis Research 115: 327–340

Lang T, Bauters A, Braun SL et al. (2005) Multi-centre investigation on reference ranges for ROTEM thrombelastometry. Blood Coagul Fibrinolysis 16: 301–310

Luddington RJ (2005) Thrombelastography/thromboelastometry. Clin Lab Haem 2005 27: 81–90

Macfarlane RG, Biggs R (1948) Fibrinolysis, its mechanism and significance. Blood 3: 1167–1187

Ranby M, Sundell IB, Nilsson TK (1989) Blood collection in strong acidic citrate anticoagulant used in a study of dietary influence on basal tPA activity. Thromb Haemost 62: 917–922

Rijken DC, Hoegee-de Nobel E, Jie AFH, Atsma DE, Schali MJ, Nieuwenhuizen W (2008) Development of a new test for the global fibrinolytic capacity in whole blood. J Thromb Haemost 6: 151–157

Sié P, Steib A (2006) Central laboratory and point of care assessment of perioperative hemostasis. Can J Anesth 53: S12–S20

# 67 D-Dimer-Bestimmung

*K. Madlener, B. Pötzsch*

## Einleitung

Die D-Dimer-Bestimmung hat einen gesicherten Stellenwert in der Diagnostik der venösen Thrombose und der Lungenembolie. Verfahren zur D-Dimer-Bestimmung werden in verschiedenen Testkonfigurationen angeboten. Die beste diagnostische Sensitivität wird mit ELISA-Verfahren erreicht. Zusammen mit der Bewertung der klinischen Wahrscheinlichkeit können mit diesen Verfahren bestimmte und unterhalb der Entscheidungsgrenze liegende D-Dimer-Konzentrationen das Vorliegen einer tiefen Beinvenenthrombose mit einem prädiktiven Wert von annähernd 100% ausschließen. Die mit unterschiedlichen Testverfahren bestimmten D-Dimer-Werte sind nur bedingt vergleichbar. Deswegen müssen für jeden D-Dimer-Test eigene Grenzwerte und Entscheidungsgrenzen erhoben werden.

### Indikationen

Die D-Dimer-Bestimmung ist ein validiertes Verfahren in der Diagnostik der tiefen Beinvenenthrombose und der Lungenembolie. Auch in der Diagnostik venöser Thrombosen an anderen Lokalisationen wird der D-Dimer-Test verwendet. Darüber hinaus wird die D-Dimer-Bestimmung immer eingesetzt, wenn der Nachweis einer Bildung von quervernetztem Fibrin mit anschließender Fibrinolyse erbracht werden soll, wie dies z. B. beim Verdacht auf das Vorliegen einer Hyperfibrinolyse oder einer disseminierten intravasalen Gerinnung der Fall ist.

Eine noch nicht eindeutig belegte Indikation liegt in der Risikobewertung nach Beendigung der Antikoagulationsphase nach einer tiefen Beinvenenthrombose. Außerdem könnte der D-Dimer-Wert einen geeigneten Surrogatparameter zur Beurteilung der Effektivität einer Antikoagulation darstellen.

### Hintergrund

Das D-Dimer ist ein Fibrinfragment, das durch Plasminverdau aus quervernetztem Fibrin freigesetzt wird. Wie in Abb. 67.1 schematisch dargestellt, bilden 2 durch kovalente Quervernetzung miteinander verbundene D-Domänen das zentrale und namensgebende Element des D-Dimers. Der zur D-Dimer-Bildung führende Plasminverdau erzeugt im Bereich der D-Domäne ein Neoepitop, das eine Bestimmung des D-Dimers durch spezifische Antikörper ermöglicht. Von der Qualität dieser Antikörper hängt wesentlich die Spezifität und Sensitivität des D-Dimer-Tests ab. Das Fibrinmolekül ist ein mehrdimensional vernetztes Polymer. Deswegen können durch Plasminverdau unterschiedlich große Fibrinfragmente entstehen, die das D-Dimer-Motiv tragen. Die daraus resultierende Antigenheterogenität kann Unterschiede zwischen den einzelnen Testverfahren zur D-Dimer-Bestimmung erklären (Dempfle 2005).

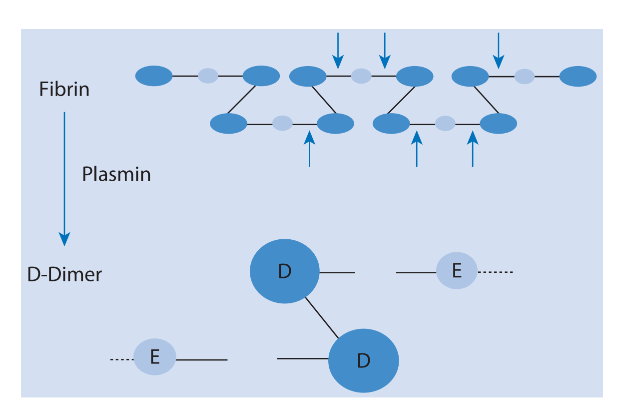



**Abb. 67.1.** Schematische Darstellung der Bildung und der Struktur des D-Dimer-Fragments. *E* zentrale E-Domäne; *D* D-Domäne

### Testprinzip

Zum Nachweis des D-Dimers stehen verschiedene Testverfahren zur Verfügung, die unterschiedliche immunologische Testprinzipien einsetzen. Im klassischen ELISA-Verfahren wird das D-Dimer-Antigen mit einem festphasengekoppelten Antikörper, der spezifisch das D-Dimer-Neoepitop erkennt, gebunden und anschließend mit einem Zweitantikörper durch ein Detektionssystem auf der Basis einer Farbstoff- oder Fluoreszenzentwicklung quantifiziert. Durch den Einsatz von Antikörper tragenden Latexpartikeln ist eine turbidometrische Auswertung der Antigen-Antikörper-Reaktion möglich. Derartige latexverstärkte Testverfahren können mit den meisten Gerinnungsautomaten analysiert werden (Dempfle 2005).

Eine Bestimmung des D-Dimers im Vollblut ist durch Einsatz eines Hybridantikörpers möglich, der gleichzeitig ein Erythrozytenantigen und das D-Dimer-Neoeptitop erkennt. Ab einer bestimmten D-Dimer-Konzentration kommt es dadurch zu einer makroskopisch sichtbaren Erythrozytenagglutination.

### Messgröße und Befunderhebung

Die Messgröße ist abhängig von der Testkonfiguration und besteht beispielsweise bei den ELISA-Verfahren in der Än-

derung der optischen Dichte oder eines anderen optischen Signals. Bei quantitativen Verfahren erfolgt anhand einer Referenzkurve die Umrechnung in D-Dimer-Konzentrationen, die in μg/ml oder mg/l angegeben werden. Alternativ werden von einigen Herstellern die D-Dimer-Konzentrationen in Fibrinequivalenten angegeben. Dabei entspricht 1 mg/l Fibrinequivalent etwa 0,5 mg/l D-Dimer. Ein nationaler oder internationaler Referenzstandard wurde bisher noch nicht definiert. Eine Ursache ist die oben beschriebene Antigenheterogenität.

In den semiquantitativen Verfahren erfolgt anhand eines testspezifisch festgelegten Grenzwerts eine Differenzierung zwischen negativen und positiven Testergebnissen.

### Untersuchungsmaterial

Die quantitative Bestimmung der D-Dimer-Konzentration erfolgt aus Zitratplasma. Eine semiquantitative Bestimmung ist mit Vollblut möglich.

### Referenzbereich

Der D-Dimer-Wert ist altersabhängig und nimmt mit steigendem Lebensalter zu (Harper et al. 2007). Dies sollte in der Erstellung von Referenzbereichen berücksichtigt werden.

Die für den diagnostischen Einsatz des D-Dimer-Werts erforderlichen Entscheidungsgrenzen werden in entsprechenden Diagnosemanagementstudien erhoben. Auf diese Weise wurde auch die Entscheidungsgrenze von 0,5 μg/ml ermittelt, die von den meisten ELISA-basierten Verfahren genutzt wird und bei deren Unterschreiten das Vorliegen einer tiefen Beinvenenthrombose oder einer Lungenembolie als unwahrscheinlich gilt.

**! Für jede klinische Indikation, in der die D-Dimer-Bestimmung diagnostisch genutzt werden soll, müssen entsprechende Entscheidungsgrenzen definiert werden.**

### Störgrößen

Die Größenverteilung der D-Dimer-Fragmente beeinflusst die Testergebnisse in Abhängigkeit von dem eingesetzten Testverfahren. Im Vollbluttest unter Einsatz des Hybridantikörpers sind kleinere Fragmente weniger gut geeignet, die Abstände zwischen den Erythrozyten zu überbrücken. Deswegen kann ein hoher Anteil an kleinen D-Dimer-Fragmenten in diesem Testansatz zu falsch-negativen Befunden führen (Edlund u. Nilsson 2006).

Im ELISA-Verfahren bieten große D-Dimere eine hohe Antigendichte für den Sekundärantikörper, da dieser in der Regel nicht spezifisch für das D-Dimer-Neoepitop ist. Bei einem relativ hohen Anteil an großen D-Dimer-Fragmenten können deswegen falsch-hohe Konzentrationen gemessen werden.

Wie bei allen anderen Antigen-Antikörper-Reaktionen kann das Messsystem durch hohe Konzentrationen von endogenen Substanzen wie Triglyzeride, Hämoglobin, Bilirubin, Gesamtprotein und Rheumafaktoren gestört werden (Wissel 2007).

### Bewertung

Erhöhte D-Dimer-Konzentrationen sind von 2 Reaktionsabläufen abhängig. Zum einen muss über die Aktivierung der plasmatischen Gerinnungskaskade quervernetztes Fibrin gebildet werden und zum anderen muss dieses quervernetzte Fibrin durch Fibrinolyse gespalten werden.

Bei der akuten tiefen Beinvenenthrombose sind beide Voraussetzungen gegeben, sodass hier fast immer erhöhte D-Dimer-Werte erhoben werden. Aber auch bei anderen klinischen Konstellationen ist diese Voraussetzung gegeben. Dies erklärt, warum das D-Dimer in der Thrombosediagnostik zwar eine hohe Sensitivität, aber nur eine geringe Spezifität aufweist. Umgekehrt wird auch deutlich, warum eine sehr geringe Thrombusmasse, wie sie bei Verschlüssen kleiner Gefäße und von Arterien zu erwarten ist, nicht typischerweise zu einem diagnostisch verwertbaren D-Dimer-Anstieg führt. Die Interpretation einer D-Dimer-Bestimmung ist deswegen von der klinischen Konstellation abhängig.

Für verschiedene D-Dimer-Tests wurde die diagnostische Sensitivität und Spezifität zum Nachweis einer tiefen Beinvenenthrombose untersucht. In 3 verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass von den Patienten mit Thromboseverdacht, die mit dem Vollbluttest SimpliRed negativ gestestet wurden und bei denen unter Berücksichtigung der klinischen Wahrscheinlichkeit eine Thrombose ausgeschlossen wurde, in einer 3-monatigen Nachbeobachtungszeit 1,8–2,4% eine Thrombose entwickelten (Tick et al. 2002; Michiels et al. 2006). Der daraus abgeleitete negativ-prädiktive Wert liegt zwischen 97,6–98,2%. Die für einen diagnostischen Test in dieser Konstellation geforderte Sensitivität von >99% wird damit nicht errreicht (Michiels et al. 2005).

Von den quantitativen ELISA-Verfahren ist der Vidas-D-Dimer bisher am intensivsten untersucht worden. In einer Vielzahl von Studien, die zusammen mehr als 5.000 Patienten einschließen, wurde mit diesem Test eine diagnostische Sensitivität für den Ausschluss einer tiefen Beinvenenthrombose zwischen 99 und 100% ermittelt. Dieses Testverfahren gilt daher als Goldstandard, an dem sich andere Firmen in der Entwicklung ihrer D-Dimer-Tests orientieren. Auch andere quantitative Verfahren zeigen ähnlich gute Werte. Die Spezifität eines positiven D-Dimer-Tests zum Nachweis einer tiefen Beinvenenthrombose liegt zwischen 30 und 50% (Michiels et al. 2006).

Besteht der klinische Verdacht auf das Vorliegen einer Hyperfibrinolyse können erhöhte D-Dimer-Werte diesen

Verdacht untermauern (▶ Kap. 30.7). Die systemische Gerinnungsaktivierung mit nachfolgender sekundärer Hyperfibrinolyse induziert bei Patienten mit einer disseminierten intravasalen Gerinnung erhöhte D-Dimer-Werte. Das Ausmaß der D-Dimer-Erhöhung und der Verlauf ermöglichen eine Bewertung der Krankheitsaktivität und des Erfolgs von therapeutischen Maßnahmen.

Klinische Studien haben gezeigt, dass eine Abschätzung des Rezidivrisikos einer Thrombose nach Beendigung der oralen Antikoagulation durch Bestimmung des D-Dimers möglich ist. Patienten mit erhöhten D-Dimer-Werten zeigen im Vergleich zu Patienten mit einem nicht erhöhten D-Dimer-Wert ein 2,27-fach erhöhtes Rezidivrisiko (Palaretti et al. 2006).

## Literatur


Dempfle CE (2005) Validation, calibration, and specificity of quantitative d-dimer assays. Semin Vasc Med 5: 315–320

Edlund B, Nilsson TK (2006) A proposed stoichiometrical calibration procedure to achieve transferability of D-dimer measurements and to characterize the performance of different methods. Clinical Biochemistry 39: 137–142

Harper PL, Theakston E, Ahmed J et al. (2007) D-dimer concentration increases with age reducing the clinical value of the d-dimer assay in the elderly. Int Med J 37: 607–613

Michiels JJ, Gadisseur A, van der Planken M et al. (2006) Different accuracies of rapid enzyme-linked immunosorbent, turbidimetric, and agglutination d-dimer assays for thrombosis exclusion: impact on diagnostic work-ups of outpatients with suspected deep vein thrombosis and pulmonary embolism. Semin Thromb Hemost 32: 678–693

Michiels JJ, Cadissear A, van der Planken M et al. (2005) Screening for deep vein thrombosis and pulmonary embolism in outpatients with suspected DVT or PE by sequential use of clinical score, a sensitive quantitative D-dimer test and non-invasive diagnostic tools. Semin Vasc Med 5: 351–370

Palaretti G, Cosmi B, Legnani C et al. (2006) D-Dimer testing to determine the duration of anticoagulation therapy. N Engl J Med 355: 1780–1789

Tick LW, Ton E, van Voorthuizen T et al. (2002) Practical diagnostic management of patients with clinically suspected deep vein thrombosis by clinical probability test, compression ultrasonography and D-dimer test. Am J Med 13: 630–635

Wissel T (2007) D-Dimere. In: Bruhn HD, Schambeck C, Hach-Wunderle V (Hrsg) Hämostaseologie für die Praxis. Stuttgart: Schattauer, S 108–111

# 68 Diagnostik von Antithrombin und des Protein-C-Systems

*B. Pötzsch, K. Madlener*

## Einleitung

Das Antithrombin-Heparin- und das Protein-C-System sind antikoagulatorische Regulationsmechanismen. Funktionsstörungen beider Systeme sind mit einem erhöhten venösen Thromboserisiko verbunden. Die Parameter Antithrombin, Protein C, Protein S und APC-Resistenz bilden deswegen in der Thrombophiliediagnostik Routineparameter, zu deren Bestimmung verschiedene Testkonfigurationen kommerziell angeboten werden. Weitere Störungen des Protein-C-Systems wie eine verminderte APC-Bildung können demgegenüber zurzeit mit Routinetesten nicht abgebildet werden.

### 68.1.1 Antithrombinbestimmung

#### Hintergrund und Indikationen

Antithrombin (AT) ist ein Serinproteaseinhibitor, der vor allem die Aktivität der Serinproteasen Faktor Xa (FXa) und Thrombin durch kovalente Komplexbildung reguliert (▶ Kap. 26). Eine Verminderung der Antithrombinaktivität, ausgelöst durch einen Antithrombinmangel oder durch ein dysfunktionelles Protein, beeinträchtigt die Regulation der Thrombinbildung.

Indikationen zur Antithrombinbestimmung sind:

- Verdacht auf das Vorliegen einer Thrombophilie,
- Verdacht auf das Vorliegen eines erworbenen Antithrombinmangels durch eine Leberfunktionsstörung oder durch einen erhöhten Umsatz, beispielsweise durch eine DIC (disseminierte intravasale Gerinnung),
- inadäquate antikoagulatorische Antwort nach Gabe eines unfraktionierten Heparins,
- Monitoring einer Antithrombinsubstitutionstherapie.

#### Testprinzip

Die Antithrombinaktivität wird mit einem Enzyminhibitionstest gemessen (Meijer et al. 2006). Wie in Abb. 68.1 schematisch dargestellt, wird der vorverdünnten Plasmaprobe FXa oder Thrombin in definierter Konzentration zugegeben. Die gleichzeitige Zugabe von unfraktioniertem Heparin und eines Fibrinpolymerisationshemmers beschleunigt die Enzym-Inhibitor-Komplexbildung und verhindert die Fibrinbildung. Nach einer Inkubationszeit wird die Konzentration an nicht inaktiviertem Enzym über die Hydrolyserate eines Peptidsubstrats gemessen. Die Antithrombinaktivität ist umgekehrt proportional der gemessenen Restaktivität von FXa oder Thrombin (FIIa).

Eine Antigenbestimmung ist mit polyklonalen Antikörpern möglich, die in verschiedenen Assayformaten, wie z. B. einem ELISA, eingesetzt werden können.

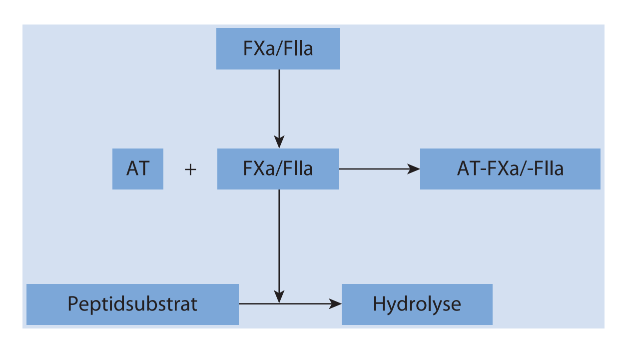



**Abb. 68.1.** Schematische Darstellung der Aktivitätstestung von Antithrombin (AT)

#### Messgröße und Befundmitteilung

Durch Mitführen einer Referenzkurve aus seriell verdünntem Humanplasma kann die gemessene Hydrolyserate eines Peptidsubstrats in prozentuale Aktivitätswerte umgerechnet werden. Auch in der Antigenbestimmung werden die ermittelten Befunde auf ein Standardnormalplasma bezogen und in prozentualen Werten ausgedrückt.

#### Untersuchungsmaterial

Die Bestimmung erfolgt aus Zitratplasma. Nach Blutabnahme sollte die Vollblutprobe innerhalb von 3 Tagen bearbeitet werden.

#### Störgrößen

Je nachdem, ob FXa oder Thrombin als Messenzym eingesetzt wird, kann es bei Behandlung des Patienten mit Thrombin- oder FXa-Inhibitoren zu falsch-hohen Befunden kommen. Eine weitere sehr seltene Störgröße ist eine unspezifische Enzymaktivität in der Plasmaprobe, die das zugegebene Substrat hydrolysiert und dadurch zu falsch-niedrigen Antithrombinaktivitäten führt. Durch Interferenz mit dem optischen Messsystem können stark hämolytische oder ikterische Plasmen zu Fehlbestimmungen führen.

#### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

Der Referenzbereich ist methodenabhängig und kann für Erwachsene zwischen 70 und 120% liegen. Geschlechtsspezifische Unterschiede existieren nicht. Bei Neugeborenen und Kleinkindern liegen die Werte niedriger. Zur internen Qualitätskontrolle werden Kontrollplasmen mit definierten

Antithrombinkonzentrationen von verschiedenen Firmen angeboten. Zur externen Qualitätskontrolle werden Ringversuche von verschiedenen Organisationen angeboten (Mackie et al. 2007).

### Bewertung

Eine unterhalb des Referenzbereichs liegende AT-Aktivität kann durch unterschiedliche Ursachen ausgelöst werden und sollte in jedem Fall durch eine Zweituntersuchung überprüft werden (Caprini et al. 2004).

Besteht der klinische Verdacht auf das Vorliegen einer Thrombophilie, sind wiederholt erniedrigt gemessene AT-Werte beweisend für das Vorliegen eines AT-Mangels, sofern eine Synthesestörung durch eine eingeschränkte Leberfunktion oder ein erhöhter AT-Umsatz ausgeschlossen werden. Bei Patienten mit einem heterozygoten AT-Mangel findet sich meist eine Erniedrigung der AT-Aktivität um 50–60% (▶ Kap. 31.1.1).

Für einen erworbenen AT-Mangel spricht eine Leberfunktionsstörung oder eine systemische Gerinnungsaktivierung, die zu einem erhöhten AT-Umsatz führt.

## 68.1.2 Protein-C-Bestimmung

### Hintergrund und Indikationen

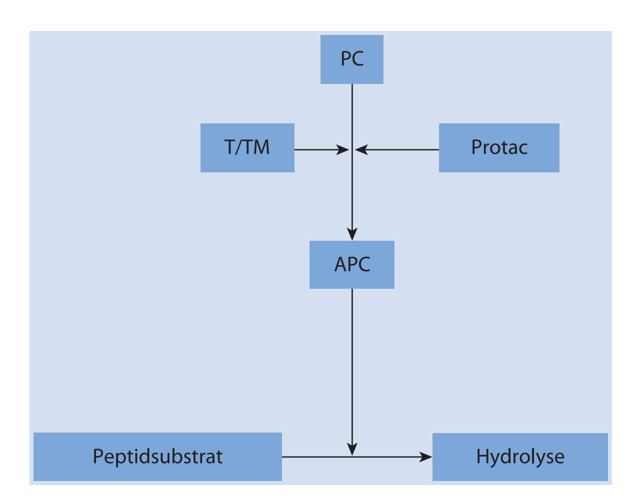
Protein C (PC) ist ein Proenzym, das thrombinabhängig an der luminalen Oberfläche von Endothelzellen aktiviert wird. Das aktivierte PC (APC) reguliert die Thrombinbildung durch proteolytische Inaktivierung der geschwindigkeitsbestimmenden Kofaktoren VIII und V im Tenase- und Prothrombinasekomplex. Eine verminderte PC-Konzentration oder die Synthese eines funktionseingeschränkten Moleküls können zu einer Störung der Thrombinregulation führen und stellen deswegen einen eigenständigen thrombophilen Risikofaktor dar. Ein erworbener PC-Mangel kann als Folge einer Synthesestörung bei einer Leberfunktionsstörung, eines Vitamin-K-Mangels oder als Folge eines gesteigerten Umsatzes z. B. im Rahmen einer Sepsis auftreten.

Indikationen zur PC-Bestimmung sind:

- Verdacht auf das Vorliegen einer Thrombophilie,
- Verdacht auf das Vorliegen eines erworbenen PC-Mangels,
- Monitoring einer PC-Substitutionstherapie.

### Testprinzip

Die funktionelle PC-Bestimmung ist ein zweistufiges Testverfahren, in dem das Proenzym PC zunächst zum aktiven Enzym APC überführt wird. Anschließend kann die APC-Aktivität über die Hydrolyserate eines Peptidsubstrats oder über die Inaktivierungsrate der natürlichen Substrate FVa und FVIIIa gemessen werden (◘ Abb. 68.2).




◘ **Abb. 68.2.** Prinzip der funktionellen Protein-C-Bestimmung. *APC* aktiviertes Protein C; *PC* Protein C; *T/TM* Thrombin-Thrombomodulin-Komplex

Fast alle kommerziell angebotenen Testverfahren setzen zur PC-Aktivierung Protac und zum Nachweis der APC-Aktivität ein Peptidsubstrat ein, obwohl grundsätzlich auch eine Aktivierung mit dem Thrombin-Thrombomodulin-Komplex und ein Aktivitätsnachweis über die Proteolyserate der Faktoren Va und VIIIa möglich wäre. Protac ist ein PC-aktivierendes Enzym, das aus dem Gift der Schlange *Agkistrodon contortrix contortrix* isoliert wird. Die Peptidsubstrate sind leichter zu handhaben, weil sie nicht wie die natürlichen Substrate zunächst aktiviert werden müssen.

Zur immunologischen Messung stehen verschiedene Assayformate zur Verfügung. Am verbreitetsten ist die Bestimmung der PC-Konzentration mit einem ELISA-Verfahren unter Einsatz von monoklonalen und polyklonalen Antikörpern.

### Messgröße und Befundmitteilung

Erfolgt die PC-Bestimmung durch ein Peptidsubstrat, ist die Messgröße die zeitabhängige Hydrolyserate des Substrats. Anhand einer Referenzkurve, die mit Standardhumanplasma erstellt wird, wird die PC-Konzentration in Prozentwerten ermittelt und angegeben.

### Untersuchungsmaterial

Standarduntersuchungsmaterial ist Zitratplasma. PC ist ein stabiler Parameter und eine Lagerung der Vollblutprobe bei Raumtemperatur ist für 3 Tage möglich.

### Störgrößen

Protein C gehört zur Gruppe der Vitamin-K-abhängig synthetisierten Gerinnungsfaktoren und ist deswegen bei Patienten reduziert, die mit Vitamin-K-Antagonisten behan-

delt werden. Heparin beschleunigt die Inaktivierung von APC durch den Protein-C-Inhibitor, sodass bei therapeutisch antikoagulierten Patienten leicht erniedrigte PC-Werte gemessen werden können.

#### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

Die PC-Konzentration ist im Neugeborenen- und Kleinkindesalter niedriger als bei Erwachsenen, sodass für diese Altersgruppen spezifische Referenzbereiche gelten (siehe Anhang). Für Erwachsene liegt der Referenzbereich zwischen 70 und 120%. Geschlechtsspezifische Unterschiede existieren nicht. Zur externen Qualitätskontrolle werden nationale und internationale Ringversuche angeboten (Meijer et al. 2006).

#### Bewertung

Ein unterhalb des Referenzbereichs liegender PC-Wert spricht für das Vorliegen eines hereditären PC-Mangels, sofern die PC-Erniedrigung in einer zweiten Blutprobe bestätigt werden kann und erworbene Ursachen für einen PC-Mangel ausgeschlossen werden können. Beim heterozygoten PC-Mangel liegt die PC-Restaktivität meist oberhalb von 40%, wohingegen beim biallelischen PC-Mangel die Restaktivität unter 10% liegt.

**! Eine PC-Substitution kann durch Bestimmung der PC-Werte gesteuert und in ihrer Wirksamkeit überprüft werden.**

### 68.1.3 Protein-S-Diagnostik

#### Hintergrund und Indikationen

Protein S (PS) zirkuliert im Plasma in einer freien und in einer an das C4b-binding-Protein gebundenen Form. Nur in der freien Form kann PS als Kofaktor für APC in der Inaktivierung der prokoagulatorischen Kofaktoren Va und VIIIa fungieren. Eine Verminderung der Konzentration an freiem PS oder eine Dysfunktion des freien PS vermindert die APC-Aktivität und ist mit einer Thromboseneigung verbunden. Daher ist die PS-Diagnostik ein Bestandteil der Thrombophiliediagnostik. Eine andere Indikation zur Durchführung der PS-Diagnostik existiert zurzeit nicht.

#### Testprinzip

Methode der Wahl ist die immunologische Bestimmung von freiem PS. Durch Einsatz eines monoklonalen Antikörpers, der mit einem für die PS-Aktivität essenziellen Epitop im freien PS-Molekül reagiert, ist eine quantitative Bestimmung des freien und funktionell aktiven PS möglich. Eine Bestimmung des Gesamt-PS ist ebenfalls immunologisch möglich, ist jedoch für die PS-Diagnostik von untergeordneter Bedeutung (Tripodi 2005).

Zur funktionellen Bestimmung der PS-Aktivität wurden eine Reihe von verschiedenen Testkonfigurationen entwickelt (Goodwin et al. 2002). Allen gemeinsam ist, dass sie die PS-Aktivität über die Verstärkung der APC-Wirkung in der Inaktivierung der natürlichen Substrate FVa oder FVIIIa messen. In den meisten kommerziellen Testverfahren wird das Patientenplasma zunächst mit einem PS-Mangelplasma verdünnt, um PS-unabhängige Einflussfaktoren zu minimieren. Anschließend wird APC zugegeben und die Verlängerung einer APTT-abhängigen Gerinnungszeit gemessen. Ein Ansatz ohne APC dient als Referenzwert und wird zur Quotientenbildung herangezogen. Alternativ kann der Plasmaprobe zusammen mit dem APC gereinigter FVa zugesetzt und anschließend die FVa-Restaktivität gemessen werden.

#### Messgröße und Befundmitteilung

Bei allen Testverfahren wird eine Referenzkurve, die mit einem Standardnormalplasma erstellt wird, mitgeführt. Anhand dieser Referenzkurve wird die PS-Aktivität in Prozentwerte umgerechnet. Auch bei den immunologischen Testverfahren wird der Befund in Prozent ausgedrückt.

#### Untersuchungsmaterial

Untersuchungsmaterial ist Zitratplasma. Nach der Blutabnahme sollte das Zitratvollblut nicht länger als 6 h gelagert werden, da es sonst zu einem PS-Abfall kommt.

#### Störgrößen

Bei allen funktionellen Testverfahren stellt die FV-Leiden-Mutation eine Störgröße dar, da die APC-Resistenz genauso wie eine verminderte PS-Aktivität zu einer verminderten antikoagulatorischen Aktivität von APC führt (Goodwin et al. 2002). Direkte FXa- oder Thrombininhibitoren können eine Störgröße in den APTT-basierten Testverfahren darstellen, da sie unabhängig von APC zu einer Verlängerung der APTT führen.

PS gehört genauso wie PC zur Gruppe der Vitamin-K-abhängig synthetisierten Proteine, sodass die Plasmaspiegel durch eine Therapie mit Vitamin-K-Antagonisten reduziert werden und die Durchführung einer PS-Diagnostik bei dieser Konstellation nicht sinnvoll ist.

#### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

Protein S ist ein geschlechtshormonabhängiges Protein und ein negatives Akut-Phase-Protein. Deswegen unterscheiden sich die Referenzbereiche von Frauen und Männern. Auch während der Schwangerschaft und unter einer Hormontherapie sind die freien PS-Plasmaspiegel erniedrigt. Dies muss bei der Interpretation der Messwerte berücksichtigt werden. Zur externen Qualitätskontrolle werden nationale und internationale Ringversuche angeboten (Meijer et al. 2006).

#### Bewertung

Der Verdacht auf einen hereditären PS-Mangel besteht, wenn in Blutproben von 2 unabhängigen Untersuchungszeitpunkten erniedrigte freie PS-Plasmaspiegel gemessen wurden und in der Befundinterpretation Einflussfaktoren wie das Geschlecht, eine Hormontherapie oder ein akutes entzündliches Geschehen berücksichtigt wurden. Der hereditäre PS-Mangel ist ein eher milder thrombophiler Risikofaktor, sodass das aus dem Vorliegen eines PS-Mangels abzuleitende therapeutische Vorgehen im Wesentlichen durch die Thromboseanamnese bestimmt wird. Die klinische Relevanz eines erworbenen PS-Mangels ist zurzeit unklar.

### 68.1.4 Bestimmung der APC-Resistenz

#### Hintergrund und Indikationen

Die APC-Resistenz ist ein molekularer Phänotyp, der durch eine verminderte antikoagulatorische Antwort des Patientenplasmas auf die Zugabe von APC gekennzeichnet ist (Dahlbäck et al. 1993). In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle wird die APC-Resistenz durch eine Punktmutation im FV-Gen ausgelöst, die zu einem Austausch der Aminosäure Arginin durch Glyzin in Position 506 des FV-Moleküls führt (Bertina et al. 1994). Durch diesen Aminosäureaustausch wird eine APC-Spaltstelle im aktivierten FV-Molekül zerstört, sodass die Regulation des Prothrombinasekomplexes gestört ist (► Kap. 31.1.1).

**! Die APC-Resistenz ist mit einem thrombophilen Phänotyp verbunden. Deswegen besteht eine Untersuchungsindikation bei Patienten mit der klinischen Verdachtsdiagnose Thrombophilie.**

#### Testprinzip

Grundsätzlich sind alle Testkonfigurationen geeignet, mit denen die antikoagulatorische Wirksamkeit von APC in der Plasmaprobe gemessen werden kann. Besonders häufig eingesetzt wird ein APTT-basiertes Assayformat, das in seinen Grundprinzipien bereits in der Ursprungsarbeit von Dahlbäck beschrieben wurde. In 2 parallelen Testansätzen wird APTT-Reagens in An- und Abwesenheit von APC mit der Plasmaprobe inkubiert und nach Kalziumzugabe die Gerinnungszeiten gemessen. Aus dem Reaktionsansatz mit APC (APC-APTT) und dem Reaktionsansatz ohne APC (APTT) wird ein Quotient, die APC-Ratio (APC-APTT/APTT), gebildet.

Durch präanalytisches Mischen der Patientenprobe mit einem FV-Mangelplasma werden Einflussfaktoren, die unabhängig von der FV-Leiden-Mutation, zu einer APC-Resistenz führen könnten, minimiert. Dazu gehören erniedrigte Protein-S-Konzentrationen, erhöhte FVIII-Konzentrationen und hohe PCI-Konzentrationen. Neben der APTT-basierten Methode sind verschiedene andere Methoden zum Nachweis der APTT beschrieben worden, darunter ein Testverfahren, das Faktor V durch Schlangengift aktiviert. Zum Nachweis der FV-Leiden-Mutation sind verschiedenste molekulargenetische Verfahren beschrieben worden.

#### Messgröße und Befundmitteilung

Die Angabe als APC-Ratio hat sich zur Befundmitteilung der APC-Resistenz durchgesetzt, nicht zuletzt weil dadurch Einflussfaktoren wie Alter, Geschlecht und AB0-Blutgruppenzugehörigkeit minimiert werden (Favaloro et al. 2005, 2006).

#### Untersuchungsmaterial

Untersuchungsmaterial ist Zitratplasma. Eine Lagerung der Vollblutprobe bei Raumtemperatur ist für 24 h möglich.

#### Störgrößen

Bei Einsatz einer APTT-basierten Bestimmungsmethode können alle die APTT beeinflussende Faktoren auch die APC-Resistenzbestimmung beeinflussen. Durch Zusatz eines Heparinneutralisators zum Testreagens wird Heparin als Störgröße minimiert, sodass eine Bestimmung der APC-Resistenz auch während einer Heparinbehandlung möglich wird.

Auch während einer Behandlung mit Vitamin-K-Antagonisten ist eine Bestimmung der APC-Resistenz möglich, wenn durch präanalytisches Mischen mit FV-Mangelplasma die Plasmaspiegel der Vitamin-K-abhängigen Faktoren korrigiert werden. Antiphospholipidantikörper können eine erworbene APC-Resistenz induzieren. Bei Vorliegen von Antiphospholipidantikörpern kann nur durch eine molekulargenetische Testung eine hereditäre APC-Resistenz nachgewiesen werden.

#### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

Durch vorherige Genotypisierung können Referenzkollektive für den Wildtyp und für heterozygote und homozygote Merkmalsträger definiert werden. Zur externen Qualitätskontrolle werden nationale und internationale Ringversuche angeboten (Meijer et al. 2006).

#### Bewertung

In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle wird eine pathologische APC-Resistenz durch eine FV-Leiden-Mutation ausgelöst. Deswegen sollte eine pathologische APC-Resistenz durch eine molekulargenetische Diagnostik bestätigt werden. In sehr seltenen Fällen kann eine pathologische APC-Resistenz durch eine andere Mutation im FV-Gen (Typ Ferrara, $HR_2$-Haplotyp) ausgelöst werden. Eine weitere Ursache einer APC-Resistenz können Antiphospholipidantikörper sein.

Wird das Vorliegen einer APC-Resistenz durch eine Zweituntersuchung oder durch eine molekulargenetische

Diagnostik bestätigt, ist von einem erhöhten Thromboserisiko auszugehen. Das Ausmaß der Erhöhung ist von weiteren individuellen Faktoren abhängig und kann anhand der Thromboseanamnese eingeschätzt werden. Von diesen individuellen Parametern ist auch das weitere therapeutische Vorgehen abhängig.

## Literatur

Bertina RM, Koeleman BP, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, de Ronde H, van der Velden PA, Reitsma PH (1994) Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. Nature 369: 64–67

Caprini JA, Glase CJ, Anderson CB, Hathaway K (2004) Laboratory markers in the diagnosis of venous thromboembolism. Circulation 109: I4–8

Dahlbäck B, Carlsson M, Svensson PJ (1993) Familial thrombophilia dur to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C. Proc Natl Acad Sci USA 90: 1004–1008

Favaloro EJ, Soltani S, McDonald J, Grezchnik E, Easton L (2006) Activated protein C resistance: the influence of AB0-blood group, gender and age. Thromb Res 117: 665–670

Favaloro EJ, Soltani S, McDonald J, Grezchnik E, Easton L (2005) Laboratory identification of familial thrombophilia: do the pitfalls exceed the benefits? A reassessemnt of AB0-blood group, gender, age, and other laboratory parameters on the potential influence on a diagnosis of protein C, protein S, and antithrombin deficiency and the potential high risk of a false positive diagnosis. Lab Hematol 11: 174–184

Goodwin AJ, Rosendaal FR, Kottke-Marchant K, Bovill EG (2002) A review of the technical, diagnostic, and epidemiologic considerations for protein S assays. Arch Pathol Lab Med 126: 1349–1366

Mackie I, Cooper P, Kitchen S (2007) Quality assurance issues and interpretation of assays. Semin Hematol 44: 114–125

Meijer P, Haverkate F, Kluft C (2006) Performance goals for the laboratory testing of antithrombin, protein C and protein S. Thromb Haemost 96: 584–589

Tripodi A (2005) A review of the clinical and diagnostic utility of laboratory tests for the detection of congenital thrombophilia. Semin Thromb Hemost 31: 25–32

# 69 Nachweis von Antiphospholipidantikörpern

*P. Quehenberger, I. Pabinger-Fasching*



## Einleitung

Antiphospholipidantikörper sind eine heterogene Gruppe von Antikörpern, die gegen Komplexe bestehend aus Phospholipiden und einem phospholipidbindenden Protein gerichtet sind. Die häufigsten phospholipidbindenden Proteine sind $\beta_2$-Glykoprotein I und Prothrombin. Ein quantitativer Nachweis von Antiphospholipidantikörpern ist mit ELISA-Verfahren möglich, die gereinigte Phospholipid-Protein-Komplexe als Antigene einsetzen. Eine Untergruppe von Antiphospholipidantikörpern ist durch die Eigenschaft gekennzeichnet, phospholipidabhängige Gerinnungszeiten zu verlängern. Diese werden als Lupusantikoagulanzien bezeichnet und können nur mit Gerinnungstests nachgewiesen werden, die Phospholipide als limitierende Größe einsetzen. In der Routine werden die »diluted Russell's viper venom time« und die »lupussensitive aktivierte partielle Thromboplastinzeit« am häufigsten eingesetzt.

## 69.1 Einleitung

Die am häufigsten nachgewiesenen Antiphospholipidantikörper stellen die Antikardiolipinantikörper, die Anti-$\beta_2$Glykoprotein-I-Antikörper (Anti-$\beta_2$GP-I-Antikörper) und die Lupusantikoagulanzien (LA) dar. Der Nachweis von Antikardiolipinantikörpern und Anti-$\beta_2$GP-I-Antikörpern erfolgt üblicherweise durch Festphasenimmunoassays (ELISA). Hier wird die Bindung von Antikörpern an immobilisierte Phospholipide (wie z. B. Kardiolipin) oder an phospholipidbindende Proteine wie beispielsweise $\beta_2$GPI nachgewiesen. Im Gegensatz dazu erfolgt der Nachweis von Lupusantikoagulans-Antikörpern mittels funktioneller, phospholipidabhängiger Gerinnungstests.

Bei 1–5% der Normalbevölkerung kann man Antiphospholipidantikörper nachweisen. Das Thromboserisiko kann bei diesen Personen als sehr gering angesehen werden. Eine Austestung von klinisch unauffälligen Personen erscheint daher nicht sinnvoll.

Die Prävalenz der Antiphospholipidantikörper steigt mit höherem Alter. Bei Patienten mit systemischem Lupus erythematodes (SLE) beträgt die Prävalenz bis zu 30%. 50–70% der Patienten mit SLE und positivem Nachweis von Antiphospholipidantikörpern entwickelt ein Antiphospholipidsyndrom innerhalb von 20 Jahren.

## 69.2 Labordiagnose von Antiphospholipidantikörpern mittels Festphasenimmunoassays (ELISA)

Bei Verdacht auf ein Antiphospholipidsyndrom sollten Antikardiolipinantikörper sowie auch Anti-$\beta_2$GP-I-Antikörper mittels ELISA bestimmt werden. Es wird empfohlen, einen Nachweis von IgG- und IgM-Antikörpern durchzuführen, wobei die Bedeutung von IgM-Antikörpern fraglich ist. Der Nachweis von IgA-Antikörpern hat nach derzeitigem Wissensstand keine diagnostische Bedeutung.

Bei Verdacht auf Vorliegen eines Antiphospholipidsyndroms werden derzeit die Bestimmungen weiterer Antiphospholipidantikörper mittels ELISA in den modifizierten Sapporo-Kriterien (▶ Kap. 31.1.2) nicht empfohlen. In wenigen Studien konnte eine Assoziation von Antiphosphatidylethanolaminantikörpern mit Thrombosen wie auch mit Spontanaborten in der Fetalperiode nachgewiesen werden. Eine Assoziation auch in Hinblick auf Antiprothrombinantikörper wird kontrovers diskutiert.

### 69.2.1 Nachweis von Antikardiolipinantikörpern

Zum Nachweis von Antikardiolipinantikörpern werden kardiolipinbeschichtete ELISA-Platten (z. B. aus Polystyren) verwendet. Als Untersuchungsmaterial kann Serum oder Plasma eingesetzt werden. Da die Antikardiolipinantikörper von Patienten mit Antiphospholipidsyndrom $\beta_2$GPI-abhängig sind, wird zu deren Erfassung üblicherweise fetales Kälberserum als Quelle für $\beta_2$GPI zu Blockier- und Waschlösungen beigegeben. Laut European Forum on Antiphospholipid Antibodies sollten Kalibratoren, Kontrollen und die Patientenproben in Doppelbestimmungen gemessen werden.

Es sollte ein eigener Referenzbereich durch Bestimmung von mindestens 50 Normalpersonen erhoben werden.

**! Da eine Alters- und Geschlechtsabhängigkeit der Prävalenz von Antikardiolipinantikörpern besteht, ist darauf zu achten, dass die Zusammensetzung des Normalkollektivs jener des zu analysierenden Patientenkollektivs entspricht.**

Der Referenzbereich sollte mittels Perzentilen berechnet werden. Nach den modifizierten Sapporo-Kriterien emp-

fiehlt sich als oberen Cut-off-Wert die 99. Perzentile anzugeben.

Als Kalibratoren werden häufig affinitätsgereinigte Standards verwendet, die gegen die sogenannten Louisville-Standards (oder Harris-Standards) kalibriert wurden. Die Resultate können als Units/ml GPL für IgG oder MPL für IgM ausgegeben werden. Trotz der Verwendung solch standardisierter Kalibratoren ist die Vergleichbarkeit der Ergebnisse zwischen den verschiedenen Tests allerdings gering. Auch die Verwendung von monoklonalen Antikörpern als Kalibratoren verbesserte die Vergleichbarkeit kaum. Allerdings führte dies zu einer Empfehlung des European Forum on Antiphospholipid Antibodies, solche monoklonalen Antikörper zumindest als Richtigkeitskontrollen zu verwenden (Tincani et al 2004).

Um eine bessere Vergleichbarkeit der Resultate zu erzielen, empfehlen einige Gesellschaften (z. B. die Australasian aCL Working Party und das National Committee for Clinical Laboratory Standards) auch die Ausgabe von semiquantitativen Resultaten (z. B. negativ, grenzwertig, mittelgradig positiv und hoch positiv).

### 69.2.2 Nachweis von Anti-$\beta_2$GP-I-Antikörpern

Mit den Antikardiolipintests werden auch Antikörper, die direkt gegen Kardiolipin gerichtet sind, erfasst. Durch einen direkten Nachweis der klinisch relevanten Antikörper gegen $\beta_2$GPI erwartet man sich eine höhere Spezifität. Auch bei diesen Testverfahren stellt die Standardisierung und die damit verbundene Vergleichbarkeit ein großes Problem dar. Eine multizentrische Evaluierung durch das European Forum on Antiphospholipid Antibodies zeigte, dass nur hoch-positive Proben von den meisten Teilnehmern erkannt wurden (Reber et al. 2002, 2005).

## 69.3 Labordiagnose des Lupusantikoagulans

Der Begriff Lupusantikoagulans (LA) umfasst eine Gruppe von Autoantikörpern, die gegen Phospholipid-Protein-Komplexe gerichtet sind und phospholipidabhängige Gerinnungstests beeinflussen. Aufgrund der heterogenen Natur der Autoantikörper sowie der unterschiedlichen Sensitivitäten und Spezifitäten der eingesetzten Tests ist zur Diagnosestellung immer der Einsatz von mehreren Testsystemen im Labor notwendig. Der Nachweis eines LA erfolgt daher im Sinne einer Stufendiagnostik, deren Abfolge in der Übersicht aufgelistet ist.

**Diagnostischer Algorhithmus zum Nachweis eines LA**

- **1. Schritt:** Verlängerung eines phospholipidabhängigen Gerinnungstest, z. B.:
  - LA-sensitive APTT
  - verdünnte Prothrombinzeit (dPT)
  - »dilute Russell's viper venom time« (dRVVT)
  - »kaolin clotting time« (KCT)
- **2. Schritt:** Plasmatauschversuch
- **3. Schritt:** Bestätigungstest zum Nachweis der Phospholipidabhängigkeit:
  - Plättchenneutralisationstest
  - hexagonale Phospholipide
  - Reagenzien mit hohem Phospholipidgehalt
- **4. Schritt:** Ausschluss von spezifischen Inhibitoren gegen einen Gerinnungsfaktor
  - bei Verdacht auf einen spezifischen Inhibitor
  - bei diskordanten Ergebnissen in den ersten 3 Schritten

**Anmerkungen zur Präanalytik.** Um phospholipidabhängige Gerinnungstests zur Detektion eines Lupusantikoagulans nützen zu können, müssen die Phospholipide in dem jeweiligen Testansatz zur limitierenden Größe werden. Es ist daher darauf zu achten, dass möglichst plättchenarmes Plasma ($<10\times10^9$/l) zur Verfügung steht, um so die Thrombozyten als Hauptquelle für Phospholipide zu minimieren. Dafür werden folgende Vorgehensweisen empfohlen:

- zweimaliges Zentrifugieren der Probe (oder eine Ultrazentrifugation, z. B. 5 min bei 10.000 ×g) oder
- Filtration des Plasmas mittels 0,22 µm-Filter.

### 69.3.1 Nachweis einer Verlängerung der Gerinnungszeiteines phospholipidabhängigen Gerinnungstests (Screeningtest)

Die verwendeten Screeningtests sollten eine möglichst hohe Sensitivität aufweisen, um falsch-negative Resultate zu vermeiden. Dies wird erreicht, indem der Phospholipidanteil in den verwendeten Reagenzien reduziert wird. Auf dieser Grundlage beruhen die am häufigsten eingesetzten Screeningtests wie die verdünnte Prothrombinzeit (auch »tissue thromboplastin inhibition test« genannt), die sogenannte »lupussensitive« aktivierte partielle Thromboplastinzeit, die »kaolin clotting time« und die »dilute Russell's viper venom time«.

Lupusantikoagulanzien werden aufgrund ihrer Heterogenität unter Umständen durch ein bestimmtes Testsystem besser erfasst als durch ein anderes. Daher wird, entspre-

chend den derzeitigen Richtlinien des Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee (SCC) der International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) zur Erfassung eines Lupusantikoagulans die Durchführung von 2 methodisch unabhängigen Screeningtests empfohlen.

Der wohl am häufigsten eingesetzte Suchtest ist die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (APTT). Die verschiedenen kommerziell angebotenen APTT-Reagenzien unterscheiden sich nicht nur in der Art des Aktivators, sondern auch in der Zusammensetzung und Konzentration der Phospholipide. In den meisten APTT-Reagenzien ist der Phospholipidanteil jedoch so hoch, dass nur eine geringe Sensitivität besteht. Es werden daher sogenannte lupussensitive-APTT mit einem geringeren Anteil an Phospholipiden angeboten bzw. die Testdurchführung mit einem verdünnten APTT-Reagens empfohlen. Des Weiteren empfiehlt das SCC der ISTH keine APTT-Reagenzien zu verwenden, die Kaolin oder Ellagsäure als Aktivatoren beinhalten (Scientific Subcommittee Minutes 2008; www.isth.org/Publications/SSCMinutes.aspx).

Die Prothrombinzeit ist aufgrund der hohen Konzentration an Phospholipiden als Screeningtest nicht geeignet. Allerdings kann durch entsprechende Verdünnung des Thromboplastinreagens ebenfalls eine hohe Sensitivität erzielt werden (verdünnte Prothrombinzeit oder auch »tissue thromboplastin inhibition test«). Eine besonders hohe Sensitivität konnte bei Verwendung von rekombinantem humanem Tissue Factor und synthetischen Phospholipiden erreicht werden. Trotzdem wird die Verwendung einer verdünnten Prothrombinzeit seitens des SCC der ISTH nicht empfohlen (Scientific Subcommittee Minutes 2008; www.isth.org/Publications/SSCMinutes.aspx).

Das Testprinzip der »dilute Russell's viper venom time« (dRVVT) beruht auf der Aktivierung von Faktor X durch ein im Schlangengift der Russell-Viper enthaltenes Enzym. Die phospholipidabhängige Aktivierung von Prothrombin durch den gebildeten Faktor Xa wird in Anwesenheit eines LA verlangsamt. Durch entsprechende Verdünnung des Phospholipidgehalts des Reagens wird eine hohe Sensitivität erzielt. Es sind verschiedene dRVVT-Reagenzien erhältlich, die sich in ihren Sensitivitäten und Spezifitäten, die auch von der Art der verwendeten Koagulometer beeinflusst werden, unterscheiden.

Andere Tests, die sich zur Erfassung von LA eignen und Schlangengifte beinhalten, sind die »Taipan clotting time« und eine Kombination der »textarin clotting time« mit der »ecarin clotting time«.

Bei der »kaolin clotting time« (KCT) wird die plasmatische Gerinnung durch den Oberflächenaktivator Kaolin aktiviert. Das Reagens enthält keine Phospholipide, das Patientenplasma ist also die einzige Phospholipidquelle im Reaktionsansatz. In Anwesenheit eines Lupusantikoagulans kommt es zu einer Verlängerung der KCT, die auch nach Zugabe von Normalplasma bestehen bleibt (KCT-Index). Durch die Beschaffenheit des Reagens ist klar, dass eine Kontamination des Plasmas mit Thrombozyten unbedingt zu vermeiden ist.

### 69.3.2 Nachweis einer inhibitorischen Aktivität mittels Plasmatauschversuch

Durch Mischen des Patientenplasmas mit Normalplasma kann ein weiterer Hinweis auf das Vorliegen eines Lupusantikoagulans gewonnen werden. Bei Bestehen eines Faktorenmangels als Ursache für die Verlängerung eines Suchtests reicht die Zugabe geringer Mengen von Normalplasma aus, um die verlängerte Gerinnungszeit zu korrigieren. In Anwesenheit eines Lupusantikoagulans sind allerdings oft größere Mengen an Normalplasma notwendig um eine Normalisierung zu erreichen.

**! In der Routinediagnostik wird häufig eine 1:1 Mischung von Patienten- und Normalplasma durchgeführt, wodurch allerdings »milde« Lupusantikoagulanzien mitunter nicht erfasst werden.**

Die Interpretation eines Plasmatauschversuchs kann in der Praxis oft Probleme bereiten, sodass die Abgrenzung von Proben mit Mangel eines oder mehrerer Gerinnungsfaktoren manchmal kaum möglich ist. Clyne und Mitarbeiter konnten außerdem zeigen, dass in ihrem untersuchten Kollektiv von Patienten mit LA 32% einen negativen Plasmatauschversuch aufwiesen. Ein hoher Anteil von dieser Gruppe war HIV-positiv (Clyne et al. 1993). Eine weitere Ursache für einen falschnegativen Plasmatauschversuch kann auch in einer verzögerten Hemmung des Gerinnungstests durch LA-Antikörper liegen, welche die inhibitorische Charakteristik eines progressiven Inhibitors besitzen. In solchen Fällen ist die zusätzliche Durchführung eines Plasmatauschversuchs nach einer längeren Inkubationszeit des Reaktionsgemisches bei 37°C notwendig (Brandt et al. 1995).

### 69.3.3 Nachweis der Phospholipidabhängigkeit

Durch Zugabe von Phospholipiden kommt es durch Neutralisierung des LA zu einer Verkürzung des verlängerten Screeningtests. Das Subcommittee on Lupus Anticoagulants der International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) empfiehlt nur in dem Testsystem den Bestätigungstest durchzuführen, in dem auch die stärkste Verlängerung der Gerinnungszeit gefunden wurde.

Im Plättchenneutralisationstest werden aktivierte oder lysierte Thrombozyten von Normalspendern dem Reaktionsansatz beigemengt und eine APTT oder dRVVT durchgeführt. Es sind eine Reihe weiterer Bestätigungstests kommerziell erhältlich, die auf der Zugabe von großen Mengen an Phospholipiden sowie auf speziellen Phospholipidkompositionen wie hexagonale Phospholipide beruhen.

Im Gegensatz zu den Screeningtests müssen die eingesetzten Bestätigungstests eine möglichst hohe Spezifität haben um die Anzahl an falsch-positiven Testergebnissen möglichst gering zu halten. Ein Vergleich der 3 oben erwähnten Bestätigungstests zeigte eine vergleichbare Spezifität. Bei Personen mit spezifischen Inhibitoren gegen Gerinnungsfaktoren sowie unter Heparintherapie kann es allerdings zu falsch-positiven Testresultaten kommen.

Kürzlich konnte gezeigt werden, dass eine Differenzierung in $\beta_2$GP-I-abhängige und -unabhängige LA möglich ist, entweder durch Reduktion der Kalziumkonzentration (bei Durchführung einer dRVVT oder einer verdünnten Prothrombinzeit) oder durch Zugabe von Kardiolipinvesikel (bei Durchführung einer APTT; Pengo et al. 2004; Simmelink et al. 2003). Eine solche Differenzierung erscheint sinnvoll, da erste Studien zeigten, dass vor allem die $\beta_2$GP-I-abhängige LA ursächlich für ein erhöhtes Thromboserisiko sind (de Laat et al. 2005; Zoghlami-Rintelen et al. 2005).

### 69.3.4 Ausschluss anderer Koagulopathien

Gemäß den Richtlinien des SSC der ISTH sollen bei Verdacht auf einen spezifischen Inhibitor gegen einen Gerinnungsfaktor (z. B. Faktor-VIII-Inhibitor) Einzelfaktoranalysen durchgeführt werden. Die Bestimmung der Einzelfaktoren kann aber auch im Rahmen einer labordiagnostischen LA-Abklärung wichtige Informationen liefern. Eine gemeinsame Verminderung mehrerer Gerinnungsfaktoren gibt oft einen Hinweis auf das Vorliegen eines LA. Bei Durchführung der Einzelfaktorbestimmungen in mehreren Plasmaverdünnungen zeigt sich mitunter, dass die entsprechende gemessene Faktoraktivität mit höheren Plasmaverdünnungen ansteigt (Ausverdünnungseffekt).

Antikörper mit LA-Aktivität, Antikardiolipinantikörper und Anti-$\beta_2$GP-I-Antikörper sind nicht idente Antikörper. Patienten können in allen 3 Nachweisverfahren positiv sein, aber auch nur in einem.

**! Es ist daher wichtig, bei einem Verdacht auf ein Antiphospholipidsyndrom oder anderen von Antiphospholipidantikörpern verursachten klinischen Symptomen möglichst alle 3 Nachweisverfahren durchzuführen.**

Eine Studie von Pengo und Mitarbeitern konnte außerdem zeigen, dass Patienten mit LA, Antikardiolipinantikörpern und Anti-$\beta_2$GP-I-Antikörpern ein stark erhöhtes Risiko für venöse und arterielle Thromboembolien aufweisen, verglichen mit Patienten mit nur zwei oder einem positiven Testergebnis (Pengo et al. 2005).

## Literatur

Abo SM, DeBari VA (2007) Laboratory evaluation of the antiphospholipid syndrome. Ann Clin Lab Sci 37: 3–14

Bas de Laat H, Derksen RHWM, Urbanus RT, Roest M, de Groot PG (2004) $\beta_2$-glycoprotein I-dependent lupus anticoagulant highly correlates with thrombosis in the antiphospholipid syndrome. Blood 104: 3598–3602

Brandt JT, Triplett DA, Alving B, Scharrer I (1995) Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulant: an update. Thromb Haemost 74: 1185–90

Clyne LP, Yen Y, Kriz NS, Breitenstein MG (1993) High incidence of negative mixing studies in a human immunodeficiency virus – positive population. Arch Pathol Lab Med 117: 595–601

Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T et al. (2006) International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. J Thromb Haemost 4: 295–306

Pengo V, Biasiolo A, Pegoraro C, Cucchini U, Noventa F, Iliceto S (2005) A two-step coagulation test to identify antiβ2-glycoprotein I lupus anticoagulants. J Thromb Haemost 2: 702–7

Pengo V, Biasiolo A, Pegoraro C, Cucchini U, Noventa F, Iliceto S (2005) Antibody profiles for the diagnosis of antiphospholipid syndrome. Thromb Haemost 93: 1147–52

Reber G, Tincani A, Sanmarco M, Moerloose P, Boffa MC (2005) Variability of anti-β2-glycoprotein I antibodies measurement by commercial assays. A collaborative study in the frame of the European Forum on Antiphospholipid Antibodies Standardization Group. Thromb Haemost 94: 665–72

Reber G, Tincani A, Sanmarco M, Moerloose P, Boffa MC (2004) Proposals for the measurement of anti-$\beta_2$-glycoprotein I antibodies. Standardization Group of the European Forum on antiphospholipid antibodies. J Thromb Haemost 2: 1860–2

Reber G, Schousboe I, Tincani A, Sanmarco M, Kveder T, Moerloose P, Boffa MC, Arvieux J (2002) Inter-laboratory variability of anti-$\beta_2$-glycoprotein I measurement. A collaborative study in the frame of the European Forum on antiphospholipid antibodies standardization group. Thromb Haemost 88: 66–73

Simmelink MJ, Derksen RH, Arnout J, de Groot PG (2003) A simple method to discriminate between β2-glycoprotein I- and prothrombin-dependent lupus anticoagulants. J Thromb Haemost 1: 740–7

Tincani A, Allegri F, Balestrieri G, Reber G, Sanmarco M, Meroni P, Boffa MC (2004) Minimal requirements for antiphospholipid antibodies ELISAs proposed by the European Forum on antiphospholipid antibodies. Thromb Res 114: 553–8

Wong RCW (2004) Consensus guideline for anticardiolipin antibody testing. Thromb Res 114: 559–71

Zoghlami-Rintelen C, Vormittag R, Sailer T, Lehr S, Quehenberger P, Rumpold H, Male C, Pabinger I (2005) The presence of IgG antibodies against β2-glycoprotein I predicts the risk of thrombosis in patients with the lupus anticoagulant. J Thromb Haemost 3: 1160–5

# 70 Heparinmonitoring

*S. Alban*



## Einleitung

Aufgrund seiner ausgesprochen variablen Pharmakodynamik und -kinetik muss unfraktioniertes Heparin (UFH) in therapeutischer Anwendung individuell dosiert werden. Die Dosisanpassung erfolgt traditionell mittels der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (APTT), beim Einsatz von UFH im Rahmen von Operationen mit extrakorporalem Kreislauf und perkutaner Koronarinterventionen (PCI) üblicherweise anhand der aktivierten Gerinnungszeit (ACT).

Die niedermolekularen Heparine (NMH) zeichnen sich gegenüber UFH durch geringere interindividuelle Schwankungen aus, sodass kein Routinemonitoring erforderlich ist. In bestimmten Fällen, wie z. B. bei Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion oder extremem Übergewicht, kann ein Monitoring anhand der Bestimmung der Anti-Faktor-Xa-Aktivität im Plasma jedoch sinnvoll sein.

Bei Danaparoid ist je nach Einsatzgebiet wie für UFH eine individuelle Dosisanpassung vorgeschrieben. Da Danaparoid wie die NMH die APTT nur geringfügig verlängert, werden auch hier die aXa-Plasmaspiegel bestimmt. Ein Monitoring des chemisch definierten selektiven Faktor-Xa-Inhibitors Fondaparinux ist prinzipiell nicht vorgesehen, kann jedoch im Einzelfall sinnvoll sein. Die Messung der aXa-Aktivität im Plasma spiegelt im Gegensatz zu den Heparinen und Danaparoid direkt die Plasmakonzentration des Arzneistoffs wider. Ein weiterer Unterschied gegenüber den Heparinen und Danaparoid besteht darin, dass bei der Anwendung von Fondaparinux keine Kontrollen der Plättchenzahl durchzuführen sind (▶ Kap. 51.1).

## Indikationen

### Unfraktioniertes Heparin

Der antikoagulatorische Effekt von unfraktioniertem Heparin (UFH) beruht v. a. auf seiner durch Antithrombin (AT) vermittelten Hemmung von Faktor Xa (FXa) und Thrombin. Die stark negativ geladenen UFH-Moleküle zeigen jedoch eine ausgeprägte Tendenz, auch an Endothel- und Blutzellen, Plättchen und Plasmaproteine wie Plättchenfaktor 4 (PF4) zu binden (Hirsh u. Raschke 2004; ▶ Kap. 51.1). Diese konkurrierenden Bindungen beeinträchtigen die antikoagulatorische Wirkung und führen dazu, dass der antikoagulatorische Response auf UFH erheblichen inter- und auch intraindividuellen Schwankungen unterliegt und UFH keine linearen Dosis-Wirkungs-Beziehungen aufweist. Bei Patienten mit hohen Plasmakonzentrationen an Akute-Phase-Proteinen oder PF4 kann es sogar zu einer AT-unabhängigen Heparinresistenz kommen (Hirsh et al. 2008). Aus diesem Grund wird der gerinnungshemmende Effekt von UFH kontrolliert und die Dosierung entsprechend angepasst.

In der Therapie venöser Thromboembolien (VTE) und des akuten Koronarsyndroms (ACS, d. h. NSTEMI und STEMI), die meist in Form einer intravenösen (i.v.) Dauerinfusion erfolgt, wird die gerinnungshemmende Wirkung traditionell mittels der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (APTT) bestimmt (Harrington et al. 2008; Hirsh et al. 2008). Alternativ zur APTT können auch die Anti-Faktor-Xa-(aXa-)Plasmaspiegel für die Dosisadjustierung in der Therapie verwendet werden (Hirsh u. Bauer 2004; Hirsh et al. 2008). Dies empfiehlt sich besonders, wenn ungewöhnlich hohe Dosen (z. B. >40.000 IE/24 h) für eine adäquate APTT erforderlich sind.

Bei Anwendung von UFH im Rahmen kardiopulmonaler Bypassoperationen und perkutaner Koronarinterventionen (PCI) erfolgt das Monitoring in der Regel über die aktivierte Gerinnungszeit (»activated clotting time«, ACT), eine Point-of-Care-Methode (POC, ▶ Kap. 57; Shore-Lesserson et al. 2005; Goodman et al. 2008). Zur Kontrolle der Antikoagulation während der Dialyse kommen sowohl APTT, ACT als auch die aXa-Bestimmung zum Einsatz (Molitor et al. 2005).

Es gibt etliche weitere Methoden, mit denen sich die UFH-Plasmaspiegel anhand eines pharmakologischen Effekts bestimmen lassen, die aber im Routinelabor derzeit keine bzw. eine untergeordnete Bedeutung haben. Dazu zählen Gerinnungstests wie die Thrombinzeit, der Heptest® und die PiCT® (»prothrombinase-induced clotting time«), chromogene Tests zur Bestimmung der Anti-FIIa-Aktivität (aIIa-Tests) und des endogenen Thrombinbildungspotenzials (ETP; ▶ Kap. 64) sowie die Thrombelastographie (▶ Kap. 58). Eine Alternative zur ACT ist das POC-System HepCon-HMS™ (Medtronic), bei dem UFH im Vollblut über Neutralisation des gerinnungshemmenden Effekts durch Protamin quantifiziert wird (Shore-Lesserson et al. 2005). Entgegen der Angaben in der Literatur handelt es sich jedoch auch bei dieser Protamintitration nicht um eine Konzentrationsbestimmung von UFH.

**! De facto gibt es bis heute kein routinetaugliches Verfahren zur Bestimmung der wirklichen Plasmakonzentration von Heparinen.**

Die heute nur noch selten durchgeführte Prophylaxe venöser Thromboembolien (VTE) mit UFH wird üblicherweise nicht kontrolliert. Sie wurde als »low dose«-Prophylaxe Mitte der 1970er-Jahre etabliert, nachdem sich gezeigt hatte, dass die 2- bis 3-mal tägliche subkutane Injektion von 5.000–7.500 IE UFH wirksam und sicher ist, obwohl die APTT nicht signifikant verlängert wird (Kakkar 1975).

### Niedermolekulare Heparine

Im Gegensatz zu UFH bestehen die niedermolekularen Heparine (NMH) überwiegend aus Glykosaminoglykanketten mit einer relativen Molekülmasse ($M_r$) <10.000. Ihre infolgedessen schwächere Tendenz zu unspezifischen Bindungen ist u. a. für die pharmakokinetischen Vorteile der NMH gegenüber UFH verantwortlich.

**! Gemessen anhand der Anti-FXa-Spiegel zeichnen sich NMH durch lineare Dosis-Wirkungs-Beziehungen eine im Vergleich zu UFH verminderte interindividuelle Variabilität aus (Al Dieri et al. 2006; ► Kap. 51.1).**

Aus diesem Grund können sie normalerweise in fixer Dosierung bzw. in der Therapie meist körpergewichtsadaptiert ohne individuelle Anpassung der Dosis anhand von Laborparametern angewandt werden.

Dieses heute evidenzbasierte Prozedere ist allerdings ursprünglich eher aus der Not entstanden, dass in den frühen 1980er-Jahren, als die NMH entwickelt wurden, ein Routinemonitoring gar nicht möglich war, da die NMH in prophylaktischer Dosierung die APTT nur marginal verlängern. Die Erkenntnis, dass die Low-Dose-Prophylaxe mit UFH trotz fehlender APTT-Verlängerung wirksam und gleichzeitig mit einem geringen Blutungsrisiko assoziiert war, akzeptierte man daher gerne als wissenschaftliche Rechtfertigung. Mit der Einführung chromogener aXa-Tests und des Gerinnungstest Heptest® wurde dann ein Monitoring prinzipiell möglich. In zahlreichen Studien zeigte sich aber weder eine Korrelation der aXa-Plasmaspiegel mit der antithrombotischen Wirksamkeit noch mit dem Blutungsrisiko (Nieuwenhuis et al. 1991; Leizorovicz et al. 1993; Kovacs et al. 1998). Auch eine prospektive Studie ergab keinen Benefit durch eine Dosisadjustierung anhand der aXa-Plasmaspiegel gegenüber dem Fixdosisregime (Alhenc-Gelas et al. 1994).

**! Daher sollte laut der aktuellen 8th ACCP-Guidelines (Hirsh et al. 2008) kein Routinemonitoring der aXa-Spiegel bei der Anwendung von NMH durchgeführt werden.**

Werden die NMH jedoch in Patientengruppen bzw. Situationen (z. B. neue Indikationen) eingesetzt, zu denen unzureichende Erkenntnisse zur Dosis-Wirkungs-Beziehung aus klinischen Studien vorliegen, kann ein aXa-Monitoring eventuell sinnvoll sein. Dies betrifft v. a. Schwangere, Kinder, Patienten mit starkem Über- oder Untergewicht und solche mit eingeschränkter Nierenfunktion (Bounameaux u. Moorloose 2004; Harenberg 2004; Hirsh et al. 2008). Dabei sollte allerdings zwischen den verschiedenen NMH differenziert und der jeweilige Erkenntnisstand berücksichtigt werden. So ist beispielsweise die aXa-Bestimmung bei der Anwendung von Enoxaparin und Fraxiparin bei Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion mittlerweile vorgeschrieben, bei Tinzaparin und Dalteparin jedoch nicht, da diese beiden NMH keine klinisch relevante Akkumulationsneigung aufweisen.

Die 8th ACCP-Guidelines empfehlen zum NMH-Monitoring chromogene aXa-Tests (Hirsh et al. 2008). Alternativ kann auch der Heptest® verwendet werden (Abbate et al. 1998; Harenberg 2004). Dieser Gerinnungstest misst durch Zugabe von FXa primär die aXa-Aktivität, erfasst aber in einem gewissen Ausmaß auch die aIIa-Aktivität und Wirkungen auf das intrinsische Gerinnungssystem (Bara et al. 1990). Neuere Methoden wie die Bestimmung des ETP (► Kap. 64) und die PiCT® (► Kap. 55) sollen v. a. als vielversprechende künftige Optionen erwähnt werden; aktuell sind sie jedoch nur in wenigen Speziallabors etabliert und die Evidenz ist begrenzt.

### Danaparoid

Danaparoid ist ein komplexes Glykosaminoglykangemisch, das u. a. einen Anteil von ca. 4% Heparansulfat mit hoher Affinität zu Antithrombin (AT) enthält. Dieser Anteil entfaltet aXa-Aktivität, man nutzt ihn daher zur Standardisierung und Dosierung von Danaparoid, obwohl er keineswegs allein für dessen antithrombotische Aktivität verantwortlich ist (► Kap. 51.1).

Danaparoid ist zugelassen zur VTE-Prophylaxe bei Patienten mit heparininduzierter Thrombozytopenie (HIT) oder einer anderen Kontraindikation für Heparine sowie zur Therapie von Thromboembolien (TE) bei Patienten mit akuter HIT oder HIT in der Anamnese. Wird es bei akuter HIT eingesetzt, ist die Dosierung sowohl in der Prophylaxe als auch in der Therapie anhand der aXa-Plasmaspiegel zu kontrollieren und ggf. anzupassen. Streng genommen darf eine TE-Therapie mit Danaparoid bei HIT-Patienten nur durchgeführt werden, wenn ein engmaschiges Monitoring (alle 4 h) mittels eines chromogenen aXa-Tests möglich ist.

### Fondaparinux

Ein Monitoring des synthetisch hergestellten Pentasaccharids Fondaparinux ist offiziell in keiner Situation angezeigt.

**! Da der selektive Faktor-Xa-Inhibitor ausschließlich mit hoher Affinität an AT bindet und keinerlei Interaktionen mit anderen Bindungspartnern zeigt (▶ Kap. 51.1), besitzt er ein lineares pharmakokinetisches Profil mit geringen interindividuellen Schwankungen, sodass keine individuelle Dosisanpassung erforderlich ist.**



Selbst bei Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktionsstörung, bei denen es zur Akkumulation von Fondaparinux kommt, wird in der VTE-Prophylaxe eine reduzierte Dosis von 1,5 mg ohne Kontrolle der Plasmaspiegel eingesetzt.

So ist es eher die gewohnte Tradition des Heparinmonitorings, die zur Etablierung diverser Methoden zur Ermittlung der aXa-Plasmaspiegel geführt hat. Diese korrelieren im Gegensatz zu denen der Heparine und Danaparoid direkt mit der Plasmakonzentration von Fondaparinux.

In bestimmten Fällen kann ein Monitoring durchaus zweckdienlich sein. So etwa, wenn der klinisch begründete Verdacht (Blutung oder Thrombose) besteht, dass Fondaparinux falsch dosiert wurde, nicht injiziert wurde (z. B. Non-Compliance bei Schwangeren) oder nicht nur Fondaparinux, sondern auch ein NMH verabreicht wurde. Ferner kann für Fragestellungen im Bereich der Forschung (z. B. Quantifizierung in Körperflüssigkeiten, Zellkulturen) und klinischen Entwicklung (z. B. Pharmakokinetik bei Schwangeren, Kindern) eine Bestimmung der aXa-Aktivität erforderlich sein.

## 70.1 Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (APTT)

### Testprinzip

Die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (»activated partial thromboplastin time«, APTT) ist neben der Thromboplastinzeit (Prothrombinzeit) der wichtigste Globaltest im Gerinnungslabor. Zum einen erfasst sie mit Ausnahme von FVII und FXIII die Aktivität bzw. Konzentration aller Faktoren der plasmatischen Gerinnung (XII, XI, IX, VIII, X, V, II sowie Präkallikrein, hochmolekulares Kininogen [HMWK] und Fibrinogen), zum anderen wird die Gerinnungszeit der APTT durch Heparine und andere Antikoagulanzien konzentrationsabhängig verlängert, wobei die direkte oder AT-vermittelte Hemmung von Thrombin einen stärkeren Effekt hat als die von FXa.

Die APTT ist ein zweistufiger Test, bei dem die Gerinnung durch Kontaktaktivierung (d. h. klassische »intrinsische Aktivierung«) ausgelöst wird. Im ersten Schritt wird ein Aktivatorreagens zugegeben, das einen Kontaktaktivator (negativ geladene Substanzen wie Ellagsäure, Kaolin, Celit oder Sliziumdioxid) sowie humane, tierische und/oder pflanzliche Phospholipide (»partielles Thromboplastin«, d. h. Phospholipide ohne Tissue Factor) enthält, die als Ersatz für die Thrombozytenoberfläche fungieren. Während einer Inkubationsphase (je nach Reagens 3–5 min) kommt es zur Aktivierung der Kontaktfaktoren (FXII, Präkallikrein und HMWK) und von FXI.

Durch die Zugabe von Kalziumionen werden dann die kalziumabhängigen Reaktionsschritte, d. h. die Aktivierung der Faktoren IX, X und II einschließlich der thrombinvermittelten Amplifikation, gestartet. Als Endpunkt wird die Fibrinbildung entweder mechanisch oder photometrisch erfasst.

### Messgröße

Die Messgröße der APTT ist die Gerinnungszeit in Sekunden, d. h. die Zeitspanne zwischen der Zugabe der Kalziumionen und der Fibrinbildung.

### Befundmitteilung

Wird die APTT zur Überwachung der Therapie mit UFH gemessen, kann das Ergebnis als Ratio angegeben, d. h. als Verhältnis der Gerinnungszeit unter UFH zur Gerinnungszeit des mittleren Referenzbereichs oder auch des Patientenplasmas vor UFH-Gabe. Am sinnvollsten, aber nicht immer praktikabel ist Letzteres, denn die APTT eines Patienten wird nicht nur durch UFH, sondern durch viele andere exogene und individuelle Faktoren beeinflusst (▶ Kap. 62). Selbst bei gesunden Probanden und unter Ausschaltung aller exogener Einflussgrößen fand man Gerinnungszeiten von 26,4–39,9 s und einen interindividuellen Variationskoeffizienten von 12% (Al Dieri et al. 2004).

### Untersuchungsmaterial

Im Labor ist die Bestimmung aus plättchenarmen Zitratplasma üblich. POC-Geräte, die Vollblut verwenden, spielen beim Heparinmonitoring keine große Rolle.

**! Das Zitratblut sollte etwa 6 h nach Beginn der UFH-Therapie abgenommen werden und möglichst schnell, d. h. innerhalb von 2 h, zur Gewinnung des Plasmas zentrifugiert werden. Die Messung der APTT sollte dann ebenfalls möglichst schnell bzw. nach einer standardisierten Zeit durchgeführt werden.**

### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

Eine APTT-Ratio von 1,5–2,5 galt lange als Zielbereich für die Therapie mit UFH (Hirsh et al. 2008). Sie basiert auf der retrospektiven Analyse einer Therapiestudie Anfang der 1970er-Jahre (Basu et al. 1972). Es gibt aber keine prospektiven randomisierten klinischen Studien, die den Nutzen einer Anpassung der UFH-Dosis auf diesen Zielbereich bestätigen.

Außerdem haben sich die Messgeräte und APTT-Reagenzien im Laufe der Jahre stark verändert. Es gibt mittlerweile mehr als 300 verschiedene APTT-Methoden, wobei sich die verschiedenen Reagenzien zum Teil deutlich in der Heparinempfindlichkeit unterscheiden (Olson et al. 1998). So fand man für Plasma mit 0,3 IU/ml UFH Gerinnungszeiten zwischen 48 und 108 s (Brill-Edwards et al. 1993; Bates et al. 2001). Plasmaproben, die zwischen 0,3 und 0,7 aXa-IE/ml UFH enthielten, was seinerzeit einer APTT-Ratio von 1,5–2,5 entsprach, ergaben je nach Messmethode Ratiowerte von 1,6–2,7 und 3,7–6,2 (Hirsh u. Raschke 2004; Hirsh et al. 2008). Eine Adjustierung der UFH-Dosis auf eine APTT-Ratio von 1,5–2,5 würde somit theoretisch zu einer Unterdosierung führen.

Es wurde zwar eine Vielzahl von Protokollen für die APTT-adaptierte Dosisanpassung entwickelt, keines ist jedoch universell für alle APTT-Reagenzien anwendbar (Brill-Edwards et al. 1993). Den 8th ACCP-Guidelines zufolge sollte daher jedes Labor seinen eigenen Zielbereich für die Therapie mit UFH definieren, indem es die APTT-Werte von heparinisierten Plasmaproben ermittelt, deren aXa-Aktivität im Bereich von 0,3–0,7 aXa-IE/ml liegt (Hirsh et al. 2008). Da solche aufwendigen Korrelationsuntersuchungen nicht immer einfach zu bewerkstelligen sind, ist die Erstellung einer Kalibrierkurve mit UFH-haltigen Plasmen als praktikabler Kompromiss anzusehen.

Heutzutage liegen übliche Gerinnungszeiten für den Referenzbereich der APTT bei 25–40 s (siehe Übersicht). Ist die APTT des Patientenplasmas bereits vor Beginn der Therapie mit UFH deutlich verlängert, ist es besser, das Monitoring anhand der aXa-Spiegel durchzuführen. Mit der APTT lassen sich je nach Empfindlichkeit des APTT-Reagens UFH-Konzentrationen von 0,1–1,0 IE/ml erfassen. Die konzentrationsabhängige Gerinnungszeitkurve von UFH zeigt einen exponentiellen Verlauf, während die von Hirudin und anderen direkten Thrombininhibitoren zunächst steil ansteigt, dann aber abflacht.

**Mögliche Zielbereiche für das UFH-Monitoring:**

- VTE-Therapie: 50–140 s (Raschke et al. 2003)
- NSTEMI: 50–70 s (Harrington et al. 2008)
- STEMI plus Streptokinase: 50–75 s (Goodman et al. 2008)
- STEMI plus andere Fibrinolytika: 50–70 s (Goodman et al. 2008)

Anmerkung: Das UFH-Monitoring bei STEMI-Patienten, die sich einer primären PCI unterziehen, wird üblicherweise mittels ACT durchgeführt.

NMH in prophylaktischer Dosierung verlängern die APTT nur geringfügig, aber bereits nach einmaliger Injektion einer therapeutischen Dosis findet man Ratiowerte von 1,3–1,6 (z. B. Certoparin und Enoxaparin). Folglich ist eine Akkumulation infolge einer Nierenfunktionsstörung notfalls auch mit der in jedem Gerinnungslabor etablierten APTT festzustellen.

### Störgrößen

Das Ergebnis einer APTT-Messung hängt von einer Vielfalt von Variablen ab (Tab. 70.1). Hierbei ist zwischen präanalytischen und messtechnisch bedingten Einflussgrößen sowie endogenen Faktoren zu differenzieren. Da die APTT ursprünglich entwickelt wurde, um den individuellen Status der plasmatischen Gerinnung zu erfassen, reagiert sie nicht nur auf eine Antikoagulation mit UFH oder sonstigen Antikoagulanzien, sondern auch auf andere anti- und prokoagulatorische Abweichungen.

Infolgedessen kann der UFH-Effekt auf die APTT sowohl verstärkt als auch vermindert werden. Kommt es trotz hoher UFH-Dosen nicht zu einer adäquaten APTT-Verlängerung, spricht man von Heparinresistenz, die verschiedene Ursachen haben kann. Primär ist zu überprüfen, ob

**Tab. 70.1.** Einflussfaktoren auf das Heparinmonitoring mittels APTT

| APTT-verlängernd | APTT-verkürzend |
|---|---|
| – Präanalytische Faktoren (z. B. zu hohe Zitratkonzentration, zu lange Lagerung der Plasmaprobe)<br>– messtechnische Faktoren (z. B. hohe Heparinempfindlichkeit des Reagens, Clot-Detektionsprinzip)<br>– angeborene Gerinnungsstörungen (z. B. Hämophile A und B, Von-Willebrand-Erkrankung)<br>– erworbene Gerinnungsstörungen (z. B. Verbrauchskoagulopathie, Leberschäden, Vitamin-K-Mangel)<br>– Fibrin-/Fibrinogenspaltprodukte<br>– Lupusantikoagulanzien<br>– unspezifische Inhibitoren<br>– Fibrinolytika | – Präanalytische Faktoren (z. B. PF4-Freisetzung bei Blutabnahme und Plasmagewinnung)<br>– messtechnische Faktoren (z. B. geringe Heparinempfindlichkeit des Reagens, Clot-Detektionsprinzip)<br>– erhöhte Konzentrationen bzw. Aktivitäten von Gerinnungsfaktoren, v. a. FVIII (z. B. in der Schwangerschaft)<br>– Antithrombinmangel<br>– Akute-Phase-Proteine (z. B. Fibrinogen, FVIII)<br>– Plättchenfaktor 4 (PF4)<br>– akute thrombotische Ereignisse<br>– Thrombozytose |

ein angeborener oder erworbener AT-Mangel vorliegt. Ferner kann Heparin durch PF4 aus aktivierten Plättchen und andere heparinbindende Proteine, deren Plasmakonzentration bei Akute-Phase-Reaktionen (Septikämie) erhöht ist, neutralisiert werden. Häufig liegt der apparenten Heparinresistenz eine »Maskierung« des UFH-Effekts durch erhöhte FVIII-Spiegel zugrunde (Levine et al. 1994).

Zu beachten ist, dass eine unzureichende APTT-Verlängerung auch auf einer Neutralisation von UFH durch artifiziell freigesetzten PF4 beruhen kann. Mögliche Ursachen hierfür sind zu intensiver und langer Venenstau, Manipulationen an der Punktionsstelle, eine zu lange Lagerung des Blutes und eine unsaubere Abtrennung des Plasmas vom »buffy coat«.

Auf etliche Faktoren, die im Rahmen von Blutabnahme, Plasmagewinnung und Lagerung von Blut und Plasma das APTT-Messergebnis verfälschen können, reagieren heparinisierte Proben besonders empfindlich (Barthels 2004; Spannagl u. Moessmer 2006). Wird beispielsweise eine Natriumzitratlösung mit einer höheren Konzentration als 0,11 mol/l bzw. 3,2% (m/v) verwendet oder das Blutabnahmeröhrchen nicht vollständig gefüllt, verlängert sich die APTT heparinisierter Plasmaproben. Von Relevanz ist auch die sukzessive Verlängerung der APTT mit zunehmender Lagerzeit der Plasmaproben (z. B. von 45 s auf 70 s nach 6 h). Sie beruht u. a. auf dem relativ schnellen Abbau von FVIII, dessen Konzentration den antikoagulatorischen Effekt von UFH in der APTT beeinflusst.

Bereits erwähnt wurde, dass die APTT-Reagenzien zum Teil erheblich in ihrer Heparinempfindlichkeit differieren. Dies ist ein wesentlicher Grund, weshalb Werte, die von verschiedenen Laboren bestimmt wurden, nur eingeschränkt vergleichbar sind. Für das Heparinmonitoring empfiehlt es sich, ein Reagenz mit hoher Heparin- und geringer Faktorenempfindlichkeit zu wählen (z. B. Pathromtin SL, Actin FS).

### Bewertung

Da UFH die APTT konzentrationsabhängig verlängert, ist sie prinzipiell gut für die Therapiesteuerung von UFH geeignet (Spannagl u. Moessmer 2006). Nachteile sind die geringe Spezifität und die fehlende Standardisierung dieses Globaltests. Während sich präanalytische und messtechnische Einflussgrößen durch adäquate Qualitätssicherung zumindest hausintern reduzieren lassen, erschweren die zahlreichen endogenen Faktoren, die sich APTT-verlängernd oder -verkürzend auswirken, oft die Einschätzung des UFH-Effekts (Molitor et al. 2005; ► Kap. 62).

Obwohl die APTT-adjustierte Dosierung von UFH in der Therapie eine seit langem etablierte, leitlinienkonforme Praxis darstellt, ist die klinische Evidenz für dieses Vorgehen dürftig. Die Tatsache, dass die UFH-Therapie in neueren Studien, in denen die Dosierung auf eine APTT-Ratio von 1,5–2,5 eingestellt war, trotz theoretischer Unterdosierung nicht weniger wirksam war (Hirsh u. Bauer 2004), lassen Zweifel an dieser Strategie aufkommen. Bemerkenswert ist, dass die Analysen, die eine Korrelation zwischen niedriger APTT und VTE-Rezidiv gezeigt haben, häufig auf Studien basieren, in denen die UFH-Therapie mit einer geringeren als der heute üblichen Dosierung begonnen wurde (Basu et al. 1972; Hull et al. 1997a, 1997b). Demgegenüber ergaben Analysen von Studien, in denen initial die empfohlene Dosierung (d. h. seit den 1990er-Jahren an das Körpergewicht adaptiert) verabreicht wurde, keinen Zusammenhang zwischen APTT und VTE-Rezidiv (Anand et al. 1996, 1999; Hirsh u. Raschke 2004). Ebenso ist kein klarer Zusammenhang zwischen hohen APTT-Werten und dem Blutungsrisiko erkennbar (Hull et al. 1990; Levine et al. 2004).

**! Diese Datenlage führt zu der Schlussfolgerung, dass eher die initiale Dosierung als eine bestimmte APTT-Verlängerung ausschlaggebend für die Wirksamkeit einer VTE-Therapie mit UFH ist und dass das APTT-Monitoring folglich nur von marginaler Bedeutung hinsichtlich der Wirksamkeit und Sicherheit einer UFH-Therapie ist (Hirsh u. Bauer 2004).**

Die Notwendigkeit der APTT-Messung bei der VTE-Therapie mit UFH wird auch durch eine aktuelle klinsche Studie infrage gestellt, in der sich die subkutane VTE-Therapie mit KG-adjustiertem UFH ohne Monitoring als ebenso wirksam und sicher wie die mit KG-adjustiertem Enoxaparin und Dalteparin erwiesen hat (Kearon et al. 2006).

## 70.2 Aktivierte Gerinnungszeit (ACT)

### Testprinzip

Die aktivierte Gerinnungszeit (»activated clotting time«, ACT) ist eine schnell und einfach durchzuführende POC-Vollblutgerinnungsmethode. Es handelt sich um einen Globaltest, der aber primär zur Überwachung der Antikoagulation mit mittel bis hoch dosiertem UFH dient. Die ACT misst die Zeit, die für die vollständige Aktivierung der Gerinnungskaskade erforderlich ist (Hattersly 1966). Der Gerinnungsprozess wird wie bei der APTT durch einen Kontaktaktivator, in erster Linie Kaolin, Celit oder Glas, ausgelöst.

Bei der klassischen Bestimmung wird Vollblut in das den Kontaktaktivator und einen kleinen Magneten enthaltende ACT-Röhrchen gefüllt. Nach manuellem Mischen wird das Röhrchen in das Messgerät platziert, wo es in Rotation versetzt wird. Bei Gerinnselbildung wird der Magnet mitgerissen, wodurch automatisch die Zeit gestoppt wird.

Heute gibt es eine Vielfalt an ACT-Messsystemen auf dem Markt (Shore-Lesserson et al. 2005). Neben der me-

chanischen Detektion der Gerinnselbildung gibt es beispielsweise auch Geräte, die den Endpunkt photometrisch erfassen.

### Messgröße und Befundmitteilung

Die Messgröße der ACT ist die Gerinnungszeit in Sekunden, d. h. die Zeitspanne zwischen der Zugabe des Kontaktaktivators bis zur Gerinnselbildung. Die ermittelte Zeit dient unmittelbar zur Anpassung der Heparindosierung.

### Untersuchungsmaterial

Die ACT wird mit frisch abgenommenem, nicht antikoaguliertem arteriellem oder venösem Vollblut durchgeführt. Bei der Blutabnahme sollten die ersten 0,5 ml Blut verworfen werden, um eine Kontamination mit Gewebsthromboplastin zu verhindern.

### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

Der Messbereich der ACT liegt bei 50–1.000 s. Die ACT von nicht heparinisiertem Blut beträgt im Normalfall 60–140 s. Wegen der ausgeprägten interindividuellen Schwankungen empfiehlt es sich, vor Beginn der Heparinisierung die Basis-ACT des Patienten zu bestimmen. Da die ACT zudem stark vom verwendeten Messsystem abhängt, sind die in der Übersicht dargestellten Zielbereiche als grobe Richtwerte anzusehen.

**Mögliche Zielbereiche der ACT für das UFH-Monitoring**

- Kardiopulmonale Bypassoperationen: ~450 s
- primäre PCI mit GP-IIb-IIIa-Inhibitor-Einsatz: >200 s (Goodman et al. 2008)
- primäre PCI ohne GP-IIb-IIIa-Inhibitor-Einsatz: 250–350 s (Goodman et al. 2008)
- Hämodialyse: 150–240 s (1,5-faches der Basis-ACT; Molitor et al. 2005)

Zum Monitoring niedriger bis mittlerer UFH-Dosen ist die ACT nicht geeignet; bei UFH-Konzentrationen von etwa 0,7 IE/ml liegt die Gerinnungszeit häufig im Referenzbereich (Murray et al. 1997).

Aufgrund der Vielzahl unterschiedlicher ACT-Messsysteme gibt es keine international standardisierte Referenzmessverfahren oder Kalibratoren. Die Qualitätskontrolle richtet sich daher nach den Angaben des Herstellers.

### Störgrößen

Ähnlich wie die APTT reagiert auch die ACT als Globaltest nicht nur auf UFH, sondern auch auf zahlreiche andere endogene und exogene Faktoren. Relevante endogene Einflussgrößen sind Hämodilution, Hypothermie, Thrombozytenzahl und -funktion, Konzentration und Aktivität der Gerinnungsfaktoren, Antithrombinkonzentration, Dysprothrombinämien, Operationsstress, Septikämie und Arzneimittel (Shore-Lesserson et al. 2005).

Um verfälschte ACT-Ergebnisse zu vermeiden, ist sorgfältig auf eine fehlerfreie Technik bei der Blutentnahme zu achten. Zu einer artifiziellen Verlängerung der ACT kann es durch eine exogene Kontamination mit Antikoagulanzien (z. B. Heparin in Katheterspüllösungen) oder auch infolge starker Hämodilution kommen. Die gleichzeitige Anwendung von Aprotinin oder GP-IIb-IIIa-Inhibitoren führt ebenfalls zu verlängerten Gerinnungszeiten, sodass sich die ACT in diesem Fall nur bedingt für das Heparinmonitoring eignet.

### Bewertung

Die ACT ist ein Test mit vielen Unzulänglichkeiten. Sie ist nur schlecht standardisierbar und zeigt eine schwache Korrelation mit Heparinmessungen mittels APTT und chromogener aXa-Bestimmung (Molitor et al. 2005). Dennoch kommt sie sozusagen flächendeckend in der Kardiochirurgie und Kardiologie zum Einsatz, da es bislang keine ebenso schnell und einfach durchzuführende alternative Methode gibt. Außerdem hat das ACT-Monitoring gegenüber einer rein empirischen UFH-Dosierung die Sicherheit kardiopulmonaler Bypassoperationen entscheidend verbessert (Shore-Lesserson 2005). Es ist davon auszugehen, dass die individuelle Erfahrung mit dem jeweils etablierten ACT-Messsystem einige der Nachteile kompensiert.

## 70.3 Chromogene Anti-Faktor-Xa-Tests

### Testprinzip

Die verschiedenen chromogenen Methoden zur Bestimmung der aXa-Aktivität von Heparinen im Plasma sind funktionelle Tests. Im Gegensatz zur APTT und ACT wird jedoch selektiv nur ein bestimmter pharmakodynamischer Effekt der Heparine erfasst, nämlich die Beschleunigung der Hemmung von FXa durch AT, die durch den AT-bindenden Anteil des Heparins vermittelt wird.

Die Tests basieren auf dem Prinzip, dass einer mit einem geeigneten Puffer verdünnten Plasmaprobe eine definierte Menge FXa und ein Überschuss eines chromogenen, selektiven FXa-Substrats zugesetzt und die enzymatische Aktivität des FXa anhand des Substratumsatzes bestimmt wird (Rosen 2005). Je mehr Heparin in der Plasmaprobe enthalten ist, desto schneller bzw. stärker wird FXa durch das vorhandene AT gehemmt und desto weniger p-Nitroanilin wird aus dem Substrat freigesetzt.

### Testvarianten

Mittlerweile werden etliche chromogene aXa-Tests kommerziell angeboten. Sie sind nicht nur bequem anzuwenden, sondern auch jeweils in allen Testparametern (z. B. Substratwahl, FXa- und Substratkonzentrationen, Puffer, Inkubationszeiten) optimiert. Um valide Ergebnisse zu gewährleisten, sind daher die individuellen Testparameter einzuhalten. Zu beachten ist, dass es zwischen den Tests auch Unterschiede konzeptioneller Art gibt, die manchmal zu voneinander abweichenden Ergebnissen führen. Daher sind aXa-Aktvitäten, die mit unterschiedlichen Tests bestimmt wurden, nur bedingt vergleichbar (Kovacs et al. 1999; Kitchen et al. 1999).

**Einstufen- und Zweistufentests.** Die aXa-Bestimmung kann in Form eines Einstufen- oder Zweistufentests erfolgen. Bei letzterem wird die verdünnte Plasmaprobe zunächst für eine definierte Zeit mit FXa inkubiert, dann folgen die Zugabe des Substrats und ein zweiter Inkubationsschritt. Demgegenüber wird die Probe beim Einstufentest gleichzeitig mit FXa und Substrat versetzt. Im Fall der Zweistufenmethode wird ein Teil des FXa zunächst durch AT-Heparin gehemmt, d. h. durch die reversible Bindung von Heparin an AT wird die Bildung inaktiver FXa-AT-Komplexe beschleunigt (>100-fach), der verbleibende FXa spaltet dann im zweiten Schritt das zugesetzte Substrat. Bei der Einstufenmethode laufen diese 2 Reaktionen gleichzeitig und damit kompetitiv ab, d. h. AT und das Substrat konkurrieren um die Bindung an FXa. Während für den Zweistufentest Substrate mit möglichst hoher Affinität zu FXa und sehr schneller Umsetzungsrate optimal geeignet sind, müssen die Substrate im Einstufentest »schlechter« sein, damit die FXa-AT-Komplexbildung nicht völlig unterdrückt wird.

**Antithrombinzusatz.** Bei einigen Tests wird zusätzlich zum AT, das im Plasma enthalten ist, eine bestimmte Menge AT zugegeben, um eine konstante AT-Konzentration im Testansatz zu erzielen. Durch den AT-Überschuss wird gewährleistet, dass AT nicht zum limitierenden Faktor wird und das in der Probe enthaltende Heparin seine volle Wirkung entfalten kann. Ein Nachteil dieser Modifikation ist, dass dadurch unter Umständen ein AT-Mangel, der die physiologische Wirkung des Heparins limitiert, maskiert wird und eine falsch-hohe aXa-Aktivität gemessen wird. So lag beispielsweise die aXa-Aktivität in Plasmaproben von Kindern nach einer Bolusinjektion von 100 IE/kgKG UFH durchschnittlich 0,2 IE/ml höher, wenn die Messung mit einem AT-Zusatz erfolgte (Ignjatovic et al. 2007).

**Dextransulfatzusatz.** Eine Testmodifikation, die ebenfalls zu höheren aXa-Aktivitäten führt, besteht in der Zugabe von Dextransulfat zum Testansatz. AT-affine Heparinmoleküle binden je nach Kettenlänge nicht selektiv an AT, sondern auch an positiv geladene Zelloberflächen und Plasmaproteine und haben dann keine katalytische Wirkung mehr auf AT (▶ Kap. 51.1). Paradebeispiele für solche Heparin neutralisierende Proteine sind PF4 und Akute-Phase-Proteine, die zu dem Phänomen der apparenten Heparinresistenz führen können. Dextransulfat interagiert als stark anionisches Polysaccharid ebenfalls elektrostatisch mit kationischen Strukturen und tritt damit in Konkurrenz zu Heparin, im Gegensatz zu Heparin bindet es jedoch nicht an AT. Dies macht man sich bei aXa-Tests zunutze. Durch den Zusatz eines Dextransulfatüberschusses wird Heparin im Plasma aus seinen »unspezifischen« Bindungen verdrängt und katalysiert ausschließlich AT (Lyon et al. 1987). Infolgedessen misst man auch bei dieser Testvariante zwar die aXa-Aktivität des in der Plasmaprobe vorhandenen Heparins, die »physiologischere« Methode ist jedoch eine Bestimmung ohne Dextransulfatzusatz (Mouton et al. 2003). In pädiatrischen Plasmaproben nach Applikation therapeutischer UFH-Dosen lag die aXa-Aktivität bei der Bestimmung mit Dextransulfat durchschnittlich 0,69 aXa-IE/ml höher (Ignjatovic et al. 2007). Es ist allerdings nicht bekannt, ob die ggf. unterschiedliche Dosisanpassung von UFH auch klinische Konsequenzen hat.

### Messgröße

Es wird die Absorption des freigesetzten p-Nitroanilins bei 405 nm gemessen, die proportional zur FXa-Aktivität der Probe ist. Entweder wird die initiale Bildungsgeschwindigkeit erfasst oder aber eine Endpunktsbestimmung durchgeführt, indem die Reaktion nach einer definierten Inkubationszeit gestoppt wird.

### Befundmitteilung

Aus der Absorption und somit der Restaktivität von FXa in der Probe wird anhand von Kalibrierkurven mit Standards bekannter Heparinkonzentration die aXa-Aktivität in der Plasmaprobe ermittelt und in aXa-IE/ml angegeben. Bei den NMH beziehen sich die aXa-IE aktuell auf den »2nd International Standard for LMWH«, bei UFH auf den »5th International Standard for UFH«. Wegen der Unterschiede zwischen den verschiedenen NMH sollte in der Kommunikation zwischen Arzt und Labor klar sein, um welches NMH es sich handelt.

### Untersuchungsmaterial

Es wird Zitratplasma verwendet. Beim Monitoring der NMH werden die maximalen Plasmaspiegel bestimmt.

> **! Daher muss die Blutentnahme 4,0±0,5 h nach der s.c.-Injektion des NMH stattfinden. Für die Kontrolle der i.v.-Therapie mit UFH kann die Blutentnahme ab 1 h nach Einstellung der Erhaltungsdosis erfolgen, bei s.c.-Applikation empfiehlt sich ein Zeitfenster von 2–4 h nach einer s.c.-Injektion.**

Im Vergleich zur APTT werden die chromogenen aXa-Tests weniger durch präanalytische Faktoren beeinflusst (McGlasson et al. 2005). Es ist im Rahmen der Blutabnahme, Plasmagewinnung und Lagerung der Blut- bzw. Plasmaproben aber darauf zu achten, dass es nicht zu einer artifiziellen Freisetzung von heparinbindendem PF4 kommt (▶ Kap. 56), denn bei einer Messung ohne Dextransulfatzusatz führt dies sowohl bei UFH als auch den NMH durch Heparinbindung zu niedrigeren Werten.

Stark lipämische, ikterische oder hämolytische Plasmen können unter Umständen die photometrische Bestimmung stören.

### Referenzbereich und Qualitätskontrolle

Die für die NMH in der Literatur angegebenen Referenzbereiche sind nur als grobe Richtwerte anzusehen (siehe Übersicht; Harenberg 2004), denn es wird nicht berücksichtigt, dass sich die verschiedenen NMH in ihrer Pharmakokinetik und damit auch in ihren maximalen Plasmaspiegeln unterscheiden (Tab. 70.2).

**Richtwerte der aXa-Aktivität für das Heparinmonitoring:**

- VTE-Prophylaxe mit NMH: 0,2–0,4 aXa-IE/ml
- VTE-Therapie mit NMH, 2-mal täglich: 0,5–1,1 aXa-IE/ml
- VTE-Therapie mit NMH, 1-mal täglich: 0,8–1,6 aXa-IE/ml
- VTE-Therapie mit UFH: 0,3–0,7 aXa-IE/ml

Anmerkung: Bei der normalerweise nicht überwachten Prophylaxe mit UFH sind Werte von 0,05–0,25 aXa-IE/ml zu erwarten.

Da der Variationskoeffizient der maximalen Plasmaspiegel >20% beträgt und es offensichtlich selbst bei gesunden Probanden »high« und »low responder« gibt (Al Dieri et al. 2006), sind je nach verabreichtem NMH auch Messwerte außerhalb des postulierten allgemein gültigen Referenzbereichs als normal zu werten. Allerdings empfiehlt es sich, beispielsweise aXa-Plasmaspiegel <0,7 aXa-IE/ml bei Gabe von Enoxaparin (2-mal täglich) oder >1,3 aXa-IE/ml unter Tinzaparin (1-mal täglich) zu überprüfen, obwohl sie innerhalb dieses Bereichs liegen.

**Tab. 70.2.** Mittlere aXa-Plasmaspiegel 4 h nach s.c.-Injektion therapeutischer NMH-Dosen

| NMH | Dosis | aXa-IE/ml |
|---|---|---|
| Certoparin | 2-mal täglich 8.000 aXa-IE | 1,0 |
| Dalteparin | 1-mal täglich 200 aXa-IE/kgKG | 1,05 |
| Enoxaparin | 2-mal täglich 1 mg/kgKG | 1,2 |
| Nadroparin | 1-mal täglich 180 aXa-IE/kgKG | 1,3 |
| | 2-mal täglich 90 aXa-IE/kgKG | 1,0 |
| Tinzaparin | 1-mal täglich 175 aXa-IE/kgKG | 0,85 |

Zur Qualitätssicherung ist jede Charge eines aXa-Tests mittels einer Standardkurve zu kalibrieren. Ferner sind zur Qualitätskontrolle pro Testlauf bzw. spätestens alle 8 h Kontrollwerte zu ermitteln. Neben einem »Plasma-Blank« und einer 100%-Kontrolle (Plasma ohne Heparin) sind mindestens 2 Kontrollplasmen mit bekanntem Heparingehalt (z. B. 0,1 und 0,7 aXa-IE/ml) zu bestimmen.

Für die Kalibrierung des Tests zur Bestimmung der aXa-Aktivität von NMH wird die Standardkurve mit dem »2nd International Standard for LMWH« bzw. NMH-Standards erstellt, die an diesem geeicht sind. Werden UFH-haltige Proben vermessen, muss der Test mit dem »5th International Standard for UFH« kalibriert werden.

Während die Einheiten der verschiedenen NMH ursprünglich unterschiedlich definiert waren, werden heute bei der Kontrolle der pharmazeutischen Qualität die aXa-IE/mg und aIIa-IE/mg der NMH mittels des »2nd International Standard for LMWH« bestimmt. Damit rechtfertigt man das übliche Prozedere, alle NMH einheitlich am »2nd International Standard for LMWH« zu messen, statt für jedes NMH eine eigene Standardkurve zu verwenden. Vergleicht man aber die Standardkurven der verschiedenen NMH mit der des »2nd International Standard for LMWH«, so zeigt sich, dass einige fast identisch sind (z. B. Certoparin), andere jedoch signifikant abweichen (Enoxaparin). Ursache dieser Diskrepanzen ist, dass bei der Ermittlung der aXa-IE/mg im plasmafreien System gearbeitet wird; bei der Bestimmung der aXa-Aktivität in Plasma manifestiert sich dann das unterschiedliche Bindungsverhalten der NMH an Plasmaproteine.

### Bewertung

Ursprünglich ging man davon aus, dass chromogene aXa-Tests im Vergleich zum globalen Gerinnnungstest APTT aufgrund des selektiven Messprinzips weniger variable Ergebnisse liefern. Inzwischen hat sich aber gezeigt, dass die mit verschiedenen Tests und/oder Messinstrumenten bestimmten aXa-Aktivitäten zum Teil deutlich voneinander abweichen und die Unterschiede sogar ein klinisch relevantes Ausmaß erreichen können (Kovacs et al. 1999; Kitchen et al. 1999; Ignjatovic et al. 2007). Die ohnehin limitierte Aussagekraft der aXa-Aktivität hinsichtlich der Wirksamkeit und Sicherheit der Heparine und die begrenzten Indikationen für ein NMH-Monitoring relativieren allerdings die Bedeutung dieser Unzulänglichkeiten.

Eine wichtige Fragestellung im klinischen Alltag ist die Akkumulation bestimmter NMH bei Patienten mit Nierenfunktionsstörungen (▶ Kap. 51.1). Während im Fall von Enoxaparin die vorgeschriebene Dosisreduktion anhand der aXa-Spiegel kontrolliert wird, dienen die aXa-Spiegel bei der Therapie mit Nadroparin und Reviparin als Indikator für eine Dosisreduktion. Das erhöhte Blutungsrisiko infolge einer Akkumulation kann zwar nachweislich durch Dosisreduktion gesenkt werden (Lim et al. 2006), es gibt jedoch keine klinischen Daten zur Wirksamkeit der reduzierten Dosis. Bevor man die Dosis aufgrund einer gemessenen hohen aXa-Aktivität im Steady State (am dritten bis vierten Tag) reduziert, ist es daher sinnvoll, die Akkumulation durch eine weitere Bestimmung am nächsten Tag zu bestätigen (ansteigende Tendenz). Um eine Akkumulation festzustellen, kann es auch hilfreich sein, die Talspiegel unmittelbar vor der Injektion der nächsten NMH-Dosis zu messen. In jedem Fall sollten die individuellen Daten zur Pharmakokinetik und Akkumulationsneigung des jeweiligen NMH berücksichtigt werden (siehe Fachinformationen).

Wird ein Monitoring im Rahmen der Anwendung eines NMH bei Schwangeren, Kindern oder Patienten mit starkem Über- oder Untergewicht durchgeführt, ist es ebenfalls ratsam, die Datenlage zu dem jeweiligen NMH zu überprüfen.

### 70.3.1 Monitoring von Danaparoid anhand der aXa-Aktivität

Die aXa-Plasmaspiegel von Danaparoid können mit den üblichen chromogenen aXa-Tests gemessen werden. Zu beachten ist, dass die aXa-Einheiten von Danaparoid anders definiert sind als die von UFH und der NMH. Die aXa-Plasmaspiegel sind anhand einer Kalibrierkurve zu bestimmen, die mit Danaparoid als Standard erstellt wird. Sie sind in aXa-E/ml anstatt aXa-IE/ml anzugeben, denn die gemessenen aXa-Plasmaspiegel haben eine andere klinische Bedeutung und sind nicht mit denen der Heparine vergleichbar.

**! Es empfiehlt sich, bei der Befundmitteilung explizit darauf hinzuweisen, dass es sich um die aXa-Aktivität von Danaparoid handelt.**

Die maximalen aXa-Plasmaspiegel werden nach ca. 4–5 h erreicht, sodass die Blutabnahme ähnlich wie beim NMH-Monitoring nach 4 h erfolgen sollte. Steady-State-Spiegel werden üblicherweise nach 4–5 Tagen und damit etwas langsamer als bei den NMH erreicht.

### 70.3.2 Monitoring von Fondaparinux anhand der aXa-Aktivität

Ein Monitoring von Fondaparinux lässt sich sehr gut mit den verfügbaren chromogenen aXa-Methoden durchführen (Paolucci et al. 2003; Klaeffing et al. 2006). Die Messung kann mit den in der Routinediagnostik üblichen Automaten erfolgen, aber auch im Mikrotiterplattenformat.

Der entscheidende Unterschied zum Heparin- und Danaparoidmonitoring besteht darin, dass mittels eines funktionellen Tests hier nicht die Plasmakonzentration der aXa-Aktivität, sondern die des Arzneistoffs bestimmt wird. Dies ist möglich, da Fondaparinux zum einen ein chemisch definierter Arzneistoff ohne Chargenvariabilität ist, der daher in Milligramm statt in Einheiten quantifiziert wird, zum anderen im Plasma nahezu vollständig und ausschließlich an AT bindet und selektiv FXa hemmt.

Aufgrund der erheblichen pharmakologischen Unterschiede zwischen Fondaparinux und den Heparinen haben auch die jeweils gemessenen aXa-Aktivitäten eine unterschiedliche Bedeutung und sind nicht vergleichbar.

**! Aus der gemessenen aXa-Aktivität wird anhand einer mit Fondaparinux erstellten Kalibrierkurve (z. B. 0,02–1,5 µg/ml) die Plasmakonzentration in µg/ml berechnet.**

Für die Erstellung der Kalibrierkurve werden inzwischen Standardsubstanzen angeboten, man kann aber ggf. auch den Inhalt einer Arixtra®-Fertigspritze verwenden. Im Gegensatz zu den Heparinen wird die Bestimmung von Fondaparinux nicht signifikant durch Testparameter (z. B. AT- oder Dextransulfatzusatz) beeinflusst. Angaben in der Literatur zu Diskrepanzen zwischen verschiedenen Tests beruhen darauf, dass fälschlicherweise gegen einen Heparinstandard gemessen wurde (Depasse et al. 2004). Da Heparine sehr wohl je nach Testdesign unterschiedlich reagieren, wirkt sich dies dann auf die ermittelten Werte für Fondaparinux aus.

Um die maximalen Plasmaspiegel im Steady-State zu messen, sollte die Blutabnahme 2,5–3 h nach der letzten s.c.-Injektion erfolgen; nach einmaliger Injektion liegt der Zeitpunkt bei 2 h (Tab. 70.3).

Die chromogene Messung der aXa-Aktivität ist exzellent geeignet, um Fondaparinux in Proben unterschiedlichster Art (z. B. Zitratplasma, EDTA-Plasma, Plasmen von Patienten unter VKA-Therapie, Urin, Zellkulturüberstände) zu quantifizieren. Sowohl eine 24-stündige Lagerung der Plasmaproben bei 4°C als auch ein mehrmaliges Einfrieren und Auftauen ist möglich, ohne das Ergebnis signifikant zu beeinflussen.

**Tab. 70.3.** Maximale Plasmakonzentrationen von Fondaparinux

| | Therapie zum Abnahmezeitpunkt | Maximale Plasmakonzentration [µg/ml] |
|---|---|---|
| Prophylaxe | Einmalige s.c.-Injektion | 0,34 (= 0,197 µmol/l) |
| | Steady-State | 0,39 (CV 31%) |
| | Steady-State, hohes Alter | 0,50 (CV 32%) |
| Therapie | Steady-State | 1,41 (CV 23%) |

*CV* Variationskoeffizient

## Literatur


Abbate R, Gori AM, Farsi A, Attanasio M, Pepe G (1998) Monitoring of low-molecular-weight heparins in cardiovascular disease. Am J Cardiol 82: 33L–36L

Al Dieri R, Alban S, Béguin S, Hemker HC (2006) Fixed dosage of low-molecular-weight heparins causes large individual variation in coagulability, only partly correlated to body weight. J Thromb Haemost 4: 83–88

Al Dieri R, Alban S, Béguin S, Hemker HC (2004) Thrombin generation for the control of heparin treatment, comparison with the activated partial thromboplastin time. J Thromb Haemost 2: 1003–1007

Alhenc-Gelas M, Jestin-Le Guernic C, Vitoux JF, Kher A, Aiach M, Fiessinger JN (1994) Adjusted versus fixed doses of the low-molecular-weight heparin fragmin in the treatment of deep vein thrombosis. Fragmin-Study Group. Thromb Haemost. 71: 698–702

Anand S, Bates SM, Ginsberg JS, Levine M, Buller H, Prins M, Haley S, Kearon C, Hirsh J, Gent M (1999) Recurrent venous thrombosis and heparin therapy. An evaluation of the importance of early activated partial thromboplastin times. Arch Intern Med 159: 2029–2032

Anand S, Ginsberg JS, Kearon C, Gent M, Hirsh J (1996) The relation between the activated partial thromboplastin time response and recurrence in patients with venous thrombosis treated with continuous intravenous heparin. Arch Intern Med 156: 1667–1681

Bara L, Mardiguian J, Samama M (1990) In vitro effect on Heptest of low molecular weight heparin fractions and preparations with various anti-IIa and anti-Xa activities. Thromb Res 57: 585–592

Barthels M (2004) Diagnostic of blood coagulation. Hämostaseologie 24: 123–134

Basu D, Gallus A, Hirsh J, Cade J (1972) A prospective study of the value of monitoring heparin treatment with the activated partial thromboplastin time. N Engl J Med 287: 324–327

Bates S, Weitz J, Johnston M et al. (2001) Use of a fixed activated partial thromboplastin time ratio to establish a therapeutic range for unfractionated heparin. Arch Intern Med 161: 385–391

Bounameaux H, de Moorloose P (2004) Is laboratory monitoring of low-molecular-weight heparin therapy necessary? No. J Thromb Haemost 2: 551–554

Brill-Edwards P, Ginsberg J, Johnston M et al. (1993) Establishing a therapeutic range for heparin therapy. Ann Intern Med 119: 104–109

Depasse F, Gerotziafas GT, Busson J, Van Dreden P, Samama MM (2004) Assessment of three chromogenic and one clotting assays for the measurement of synthetic pentasaccharide fondaparinux (Arixtra) anti-Xa activity. J Thromb Haemost 2: 346–348

Goodman SG, Menon V, Cannon CP, Steg G, Ohman EM, Harrington RA; American College of Chest Physicians (2008) Acute ST-segment elevation myocardial infarction: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). Chest 133: 708S–775S. Erratum in: Chest 2008;134(4): 892

Harenberg J (2004) Is laboratory monitoring of low-molecular-weight heparin therapy necessary? Yes. J Thromb Haemost 2: 547–550

Harrington RA, Becker RC, Cannon CP et al.; American College of Chest Physicians (2008) Antithrombotic therapy for non-ST-segment elevation acute coronary syndromes: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). Chest 133 (6 Suppl): 670S–707S

Hattersly P (1966) Activated coagulation time of whole blood. Journal of the American Medical Association 136: 436–440

Hirsh J, Bauer KA, Donati MB, Gould M, Samama MM, Weitz JI (2008) Parenteral anticoagulants: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). Chest 133(6 Suppl): 141S–159S

Hirsh J, Bates S (2004) The multiple faces of the partial thromboplastin time APTT. J Thromb Haemost 2: 2254–2256

Hirsh J, Raschke R (2004) Heparin and low moleuclar weight heparin: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. Chest 126(3 Suppl): 188S-203S

Hull RD, Raskob GE, Brant RF, Pineo GF, Valentine KA (1997a) Relation between the time to achieve the lower limit of the APTT therapeutic range and recurrent venous thromboembolism during heparin treatment for deep vein thrombosis. Arch Intern Med 157: 2562–2568

Hull RD, Raskob G, Brant RF, Pineo GF, Valentine KA (1997b) The importance of initial heparin treatment on long-term clinical outcomes of antithrombotic therapy. Arch Intern Med 157: 2317–2321

Hull RD, Raskob GE, Rosenbloom D, Panju AA, Brill-Edwards P, Ginsberg JS, Hirsh J, Martin GJ, Green D (1990) Heparin for 5 days as compared with 10 days in the initial treatment of proximal venous thrombosis. N Engl J Med 322: 1260–1264

Ignjatovic V, Summerhayes R, Gan A et al. (2007) Monitoring Unfractionated Heparin (UFH) therapy: which Anti-Factor Xa assay is appropriate? Thromb Res 120: 347–351

Kearon C, Ginsberg JS, Julian JA et al.; Fixed-Dose Heparin (FIDO) Investigators (2006) Comparison of fixed-dose weight-adjusted unfractionated heparin and low-molecular-weight heparin for acute treatment of venous thromboembolism. JAMA 296: 935–942

Kakkar VV (1975) Low-dose heparin in the prevention of venous thromboembolism-rationale and results. Adv Exp Med Biol 52: 323–340

Kitchen S, Lampietro R, Wooley AM, Preston FE (1999) Anti-Xa monitoring during treatment of LMWH or danaparoid: inter-assay variability. Thromb Haemost 82: 1289–1293

Klaeffling C, Piechottka G, Daemgen-von Brevern G, Mosch G, Mani H, Luxembourg B, Lindhoff-Last E (2006) Development and clinical evaluation of two chromogenic substrate methods for monitoring fondaparinux sodium. Ther Drug Monit 28: 375–381

Kovacs MJ, Keeney M, MacKinnon K, Boyle E (1999) Three different chromogenic methods do not give equivalent anti-Xa levels for patients on therapeutic low molecular weight or unfractionated heparin. Clin Lab Haematol 21: 55–60

Kovacs MJ, Weir K, MacKinnon K, Keeney M, Brien WF, Cruickshank MK (1998) Body weight does not predict for anti-Xa levels after fixed dose prophylaxis with enoxaparin after orthopedic surgery. Thromb Res 91:137–142

Leizorovicz A, Bara L, Samama MM, Haugh MC (1993) Factor Xa inhibition: correlation between the plasma levels of anti-Xa activity and occurrence of thrombosis and haemorrhage. Haemostasis 23 Suppl 1: 89–98

Levine MN, Raskob G, Beyth RJ, Kearon C, Schulman S (2004) Hemorrhagic complications of anticoagulant treatment: the Seventh ACCP

Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. Chest 126(3 suppl): 287S–310S

Levine M, Hirsh J, Gent M, Turpie AG, Cruickshank M, Weitz J, Anderson D, Johnson M (1994) A randomized trial comparing activated thromboplastin time with heparin assay in patients with acute venous thromboembolism requiring large daily doses of heparin. Arch Intern Med 154: 49–56

Lim W, Dentali F, Eikelboom JW, Crowther MA (2006) Meta-Analysis: Low-Molecular-Weight Heparin and Bleeding in Patients with Severe Renal Insufficiency. Ann Intern Med 144: 673–684

Lyon SG, Lasser EC, Stein R (1987) Modification of an amidolytic heparin assay to express protein-bound heparin and to correct for the effect of antithrombin III concentration. Thromb Haemost 58: 884–887

McGlasson DL, Kaczor DA, Krasuski RA, Campbell CL, Kostur MR, Adinaro JT (2005) Effects of pre-analytical variables on the anti-activated factor X chromogenic assay when monitoring unfractionated heparin and low molecular weight heparin anticoagulation. Blood Coagul Fibrinolysis 16: 173–176

Molitor B, Klingel R, Hafner G (2005) Monitoring of the heparin therapy during acute haemodialysis. Hamostaseologie 25: 272–278

Mouton C, Calderon J, Janvier G, Vergnes MC (2003) Dextran sulfate included in factor Xa assay reagent overestimates heparin activity in patients after heparin reversal by protamine. Thromb Res 111: 273–279

Murray DJ, Brosnahan WJ, Pennell B et al. (1997) Heparin detection by the activated coagulation time: a comparison of the sensitivity of coagulation tests and heparin assays. J Cardiothorac Vasc Anesth 11: 24–28

Nieuwenhuis HK, Albada J, Banga JD, Sixma JJ (1991) Identification of risk factors for bleeding during treatment of acute venous thromboembolism with heparin or low molecular weight heparin. Blood 78: 2337–2343

Olson JD, Arkin CF, Brandt JT, Cunningham MT, Giles A, Koepke JA, Witte DL (1998) College of American Pathologists Conference XXXI on laboratory monitoring of anticoagulant therapy: laboratory monitoring of unfractionated heparin therapy. Arch Pathol Lab Med 122:´782–798

Paolucci F, Frasa H, Van Aarle F et al. (2003) Two sensitive and rapid chromogenic assays of fondaparinux sodium (Arixtra) in human plasma and other biological matrices. Clin Lab 49: 451–460

Raschke R, Hirsh J, Guidry J (2003) Suboptimal monitoring and dosing of unfractionated heparin in comparative studies with low molecular weight heparin. Ann Intern Med 138: 720–724

Rosén S (2005) Chromogenic methods in coagulation diagnostics. Hämostaseologie 25: 259–266

Shore-Lesserson L (2005) Evidence based coagulation monitors: heparin monitoring, thromboelastography, and platelet function. Semin Cardiothorac Vasc Anesth 9: 41–52

Spannagl M, Moessmer G (2006) Global tests of haemostasis. Hämostaseologie 26: 27–37

# 71 Monitoring von direkten Thrombininhibitoren

*G. Nowak*



## Einleitung

Direkte Thrombininhibitoren (DTI) haben meist nur eine geringe therapeutische Breite. Zur Vermeidung von Blutungskomplikationen wird ein Drug-Monitoring empfohlen. Besonders gut geeignet sind Meizothrombingenerierungstests wie die ECT (»ecarin clotting time«) und der ECA (»ecarin chromogenic assay«). Im klinischen Alltag wird die Therapieüberwachung mit der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (APTT) durchgeführt.

Oral verfügbare Thrombininhibitoren wie Dabigatran werden mittels Standarddosis appliziert, ein Monitoring ist nur bei Risikopatienten notwendig.



### Indikationen für ein Drug-Monitoring

Da die direkten Thrombininhibitoren (DTI) eine relativ geringe therapeutische Breite haben, d. h. der Abstand zwischen therapeutischer Dosis und beginnender toxischer Nebenwirkungen relativ schmal ist, sollte eine quantitative Methode zum Substanz- oder Wirkungsnachweis zur Verfügung stehen. Bei der Verwendung von DTI ist es üblich, Surrogat- oder Biomarker zur Therapieüberwachung einzusetzen.

Die direkten Thrombininhibitoren haben eine direkte Korrelation zwischen verabreichter Dosis, Plasmaspiegel und Intensität des pharmakologischen Effekts. Eine bei der klinischen Anwendung zu beobachtende Variabilität der Dosis-Wirkungs-Beziehung erklärt sich aus der Vielzahl möglicher Einflussgrößen. Die direkten Thrombininhibitoren verteilen sich ausnahmslos im extrazellulären Wasserraum und sind dementsprechend von individuellen Bezugsgrößen in ihrer Konzentration im Blut abhängig. Dazu gehören das Körpergewicht, teilweise Alter und Geschlecht, aber auch pharmakokinetische Eckdaten wie Absorption, Verteilung und Biotransformation sowie Exkretion. Kenntnisse hierzu sind unabdingbar zur individuellen Dosisfindung bei längerzeitiger Anwendung.

Weitere Einflussgrößen auf die Wirkung und den Blutspiegel der Substanz sind die Plasmaproteinbindung, v. a. der synthetischen monovalenten Thrombininhibitoren, sowie ein möglicher Metabolismus (Leberfunktion) und die Eliminationswege, die sowohl die Nieren als auch die Leber-Galle-Schiene betreffen. Bei Krankheiten und Funktionseinschränkungen bzw. akuten Ausfällen der Eliminationsorgane kann es zur Akkumulation der Substanz im Körper kommen und damit zu negativen Auswirkungen auf das Wirkungsprofil und zu Nebenwirkungen.

Bei den hochwirksamen direkten Thrombininhibitoren wie dem Hirudin ergibt sich aufgrund der Peptidstruktur auch die prinzipielle Möglichkeit, dass Patienten Antikörper entwickeln, die entweder die Wirksamkeit nicht beeinflussen oder die thrombininhibitorische Wirkung neutralisieren, aber auch als gerinnungsaktive Antigen-Antikörper-Komplexe längere Zeit im Blut vorhanden sind und eine Dosisreduktion erforderlich machen. Das Drug-Monitoring wird ebenfalls für die Arzneimittelsicherheit im forensischen Sinne benötigt. Bei der zunehmenden Zahl von synthetischen kleinmolekularen direkten Thrombininhibitoren, die teilweise oral anwendbar sind, ist das Drug-Monitoring auch für die Complianceüberwachung von Bedeutung. Eine nicht regelmäßige Einnahme von kompetitiven direkten Thrombininhibitoren kann Reboundphänomene (Thrombin-Inhibitor-Komplex zerfällt und aktives Thrombin ist verfügbar) nach sich ziehen, die dann unter Umständen akute thrombophile Reaktionen auslösen können.

## 71.1 Qualitatives Monitoring mit Surrogat-bzw. Biomarkern

### 71.1.1 Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (APTT)

Die APTT erfasst wesentliche Komponenten des intrinsischen Aktivierungswegs der Gerinnung. Da bei dieser Methode die Gerinnungszeit des verwendeten Plasmas herangezogen wird, ist die Endphase der Gerinnungsaktivierung – die Thrombingenerierung mit nachfolgender Fibrinogen-Fibrin-Transformation – der DTI-Stellwert in diesem Messsystem. Bei den Zulassungsstudien war es deshalb verständlich, dass diese die APTT zum Monitoring benutzt haben (Liesenfeld et al. 2006). Die klinischen Erfahrungen zeigen, dass indirekte oder direkte Thrombininhibitoren eine Verlängerung der APTT nach sich ziehen, die konzentrationsabhängig ist, aber in den Einzelwerten stark individuell variiert. In ◘ Abb. 71.1 sind die APTT-Werte einer Dabigatran-Studie dargestellt (Liesenfeld et al. 2006). Es ist erkennbar, dass eine exakte Zuordnung der APTT-Werte zu einem Plasmaspiegelwert der Substanz nicht möglich ist.

#### Testprinzip

Die APTT ist ein Zweistufentest (▶ Kap. 62.2). Zunächst wird das APTT-Reagenz mit Zitratplasma über eine definierte Zeit (meist 2 min) bei 37°C vorinkubiert. Danach wird der Gerinnungsvorgang durch die Zugabe eines Überschusses an Kalziumionen gestartet.

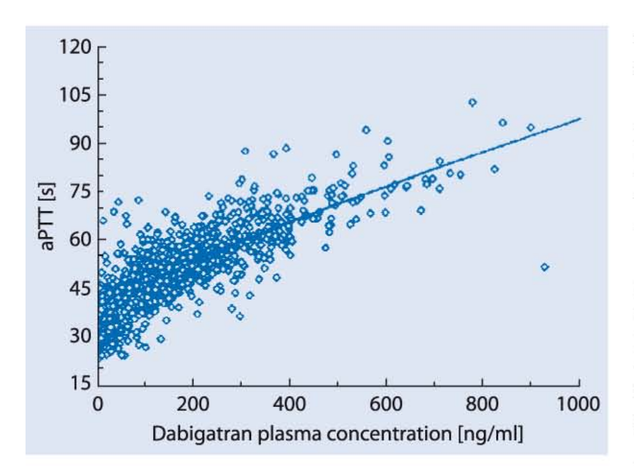



**Abb. 71.1.** APTT-Werte bei steigenden Plasmakonzentrationen von Dabigatran nach Gabe von Dabigatranetexilat am Tag 4 (Steady-State) nach orthopädischer Operation in der BISTRO-1-Studie (aus Liesenfeld et al. 2006)

#### Messgröße und Befundmitteilung

Messgröße der APTT ist die Gerinnungszeit. Die Befunde werden in Sekunden bzw. als Mehrfaches des APTT-Referenzwerts angegeben.

#### Untersuchungsmaterial

Das Untersuchungsmaterial ist Zitratplasma.

#### Referenzbereich

Der therapeutische Bereich für direkte Thrombininhibitoren beträgt das 1,5- bis maximal 3-fache des mittleren APTT-Referenzwerts.

#### Bewertung

Durch die fehlende Präzision bei höheren DTI-Konzentrationen (Abb. 71.1) kann eine Überdosierung und damit eine Blutungstendenz nicht immer oder nur bedingt erkannt werden.

### 71.1.2 Prothrombinase induced Clotting Time (PICT)

#### Testprinzip

PICT (Prothrombinase induced Clotting Time) ist ein Gerinnungsglobaltest, der auf der Basis der APTT weiterentwickelt wurde (Schöni 2005). Auch hier werden Phospholipide als partielle Thromboplastinkomponenten benutzt. Zusätzlich werden noch boviner aktivierter FX und ein aus dem Gift der Russell-Viper gereinigter FV-Aktivator benutzt. Diese Aktivierungsmischung wird mit Zitratplasma inkubiert und nach 180 s der Gerinnungsprozess durch Kalziumzugabe gestartet. Der FXa macht diese Methode besonders für FXa-Inhibitoren empfindlich.

Der Test ist sowohl für direkte und indirekte Thrombininhibitoren als auch FXa-Inhibitoren als qualitatives Drug-Monitoring geeignet. Für jedes der verwendeten Antikoagulanzien müssen spezielle Kalibratoren eingesetzt werden.

#### Messgröße und Befundmitteilung

Die Messgröße ist eine Gerinnungszeit, die im Bereich von 30 s liegt und individuelle Schwankungen aufweist. Die Befundmitteilung erfolgt als Ratio, kann aber auch als Verlängerung des Grundwerts in Sekunden angegeben werden.

#### Untersuchungsmaterial

Als Untersuchungsmaterial wird Zitratplasma benutzt. Das Material sollte möglichst plättchenfrei und hochtourig zentrifugiert vorliegen, damit keine Phospholipidoberflächen von Restplättchen die Bestimmung stören. Da während des Zentrifugationsvorgangs aus den Plättchen Mikropartikel freigesetzt werden, die aus Phospholipiden bestehen, ist mit Ungenauigkeiten zu rechnen.

#### Referenzbereich

Der Referenzbereich muss von Substanz zu Substanz festgelegt werden. Er beträgt in der Regel das 2- bis 3-fache des Basiswerts.

#### Bewertung

Die Sensitivität der PICT für DTI ist niedrig. PICT eignet sich auch zum Monitoring von FXa-Inhibitoren.

## 71.2 Meizothrombingenerierungstests

Für die direkten Thrombininhibitoren sind zum quantitativen Drug-Monitoring nur solche Tests geeignet, die möglichst mit keinen Störungen aus der pathologischen Auslenkung des Gerinnungssystems im Sinne von thrombophilen oder hämophilen Reaktionen behaftet sind. Solche Tests sind die »ecarin clotting time« (ECT; Nowak u. Bucha 1996; Nowak 2003) und der »ecarin chromogenic assay« (ECA; Lange et al. 2003). Bei diesen Tests wird mithilfe der Schlangengiftprotease Ecarin (aus *Echis carinatus*) das Meizothrombin, ein Prothrombin-Thrombin-Intermediat, im Blut bzw. Plasma generiert (Abb. 71.2).

Meizothrombin unterscheidet sich von Prothrombin lediglich dadurch, dass durch limitierte Proteolyse der Arg-320-Peptidbindung das aktive Zentrum des Thrombins bereits freiliegt und dieses dann für die direkten Thrombininhibitoren als Pharmakonrezeptor dient. Die Tests sind so ausgelegt, dass es zur zeitlich konstanten Ge-

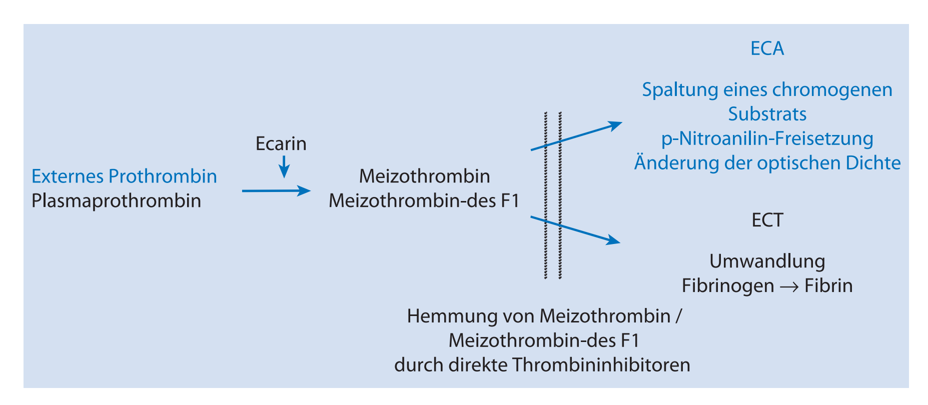



**Abb. 71.2.** Schematische Darstellung des Messprinzips bei der ECT und beim ECA. *Meizothrombin-des F1* Intermediärprodukt, das bei der Autokatalyse des humanen Meizothrombins entsteht

nerierung von Meizothrombin kommt, das dann autokatalytisch zu α-Thrombin verändert wird. Das α-Thrombin kann über Spaltung seines natürlichen Substrats Fibrinogen die Gerinnung einleiten. Die Meizothrombingenerierungstests benötigen nur Prothrombin, bei der ECT zusätzlich Fibrinogen zur Gerinnselbildung.

Beim chromogenen Substrattest (ECA) wird das teilweise freigelegte aktive Zentrum (»thrombin like enzyme«) benutzt, welches ein spezielles chromogenes Substrat spaltet. Die Generierung des p-Nitroanilins aus dem chromogenen Substrat läuft ebenfalls mit konstanter Geschwindigkeit ab, sodass präzise Messwerte erreicht werden.

### Messgröße und Befundmitteilung

Messgröße bei der ECT ist die Gerinnungszeit, die anhand einer Kalibrationsgeraden in den quantitativen Gehalt an direkten Thrombininhibitoren pro Milliliter umgerechnet wird. Messgröße beim ECA ist ein optischer Schwellenwert, der durch den Einfluss der direkten Thrombininhibitoren auf Meizothrombin später erreicht wird. Diese Zeit wird für die Quantifizierung herangezogen. Für r-Hirudin liegt der lineare Messbereich der Meizothrombingenerierungsmethoden bei 0–5 μg/ml.

Die Befundmitteilung erfolgt ausschließlich in μg/ml bzw. mg/ml Blut oder Plasma.

### Untersuchungsmaterial

Als Untersuchungsmaterial können sowohl Zitratplasma als auch Zitratblut verwendet werden. Plasma kann bei beiden Methoden direkt eingesetzt werden, die Messung im Blut ist mit dem ECA nach Vorverdünnung möglich (bei der ECT nicht notwendig). Es können auch mit Heparin antikoagulierte Proben oder Asservate von Patienten, die mit oralen Antikoagulanzien behandelt werden, verwendet werden. Beide indirekt wirkenden Antikoagulanzien beeinflussen die ECT und den ECA nicht.

### Referenzbereich

Der therapeutische Bereich für r-Hirudin liegt zwischen 0,5 und 2 μg/ml. Für die neuen direkten Thrombininhibitoren müssen die Monitoringbereiche noch festgelegt werden. Melagatran hatte einen therapeutischen Blut- bzw. Plasmaspiegelbereich von 1–1,5 μg/ml.

### Bewertung

Bei der Anwendung von r-Hirudin und anderen DTI muss ein engmaschiges Drug-Monitoring erfolgen, damit bei eingeschränkter Funktion der substanzspezifischen Eliminationsorgane (Niere, Leber) rechtzeitig eine Dosisreduktion vorgenommen werden kann. Für r-Hirudin waren für die einzelnen Indikationen spezielle prophylaktische bzw. therapeutische Fenster definiert worden, die eine sichere Anwendung des Medikaments ermöglichen. In Abb. 71.3 sind die Daten des therapeutischen Drug-Monitorings mittels ECT bei einer Dialysepatientin über 7 Jahre (über 1.000 Dialysen!) mit den Dosisadaptierungen dargestellt (eigene Daten). Eine optimale Therapieführung ist nur über das quantitative Drug-Monitoring möglich.

## 71.3 Weitere Methoden

Bei chromogenen Substratmethoden wird zu Zitratplasma ein chromogenes Thrombinsubstrat zugegeben und die Reaktion mit Thrombinreagens gestartet. Abhängig vom Gehalt an direkten Thrombininhibitoren wird ein Teil des zugesetzten Thrombins inhibiert und der restliche freie Teil von Thrombin kann dann je nach noch vorhandener Konzentration ein chromogenes Thrombinsubstrat spalten, welches spektralphotometrisch bei einer Absorption von 405 nm quantifizierbar ist. Die Methoden haben aber aufgrund des Einsatzes von Nativplasma eine ganze Reihe von störenden Variablen (z. B. natürliche Thrombininhibitoren), die das Messergebnis beeinflussen können.

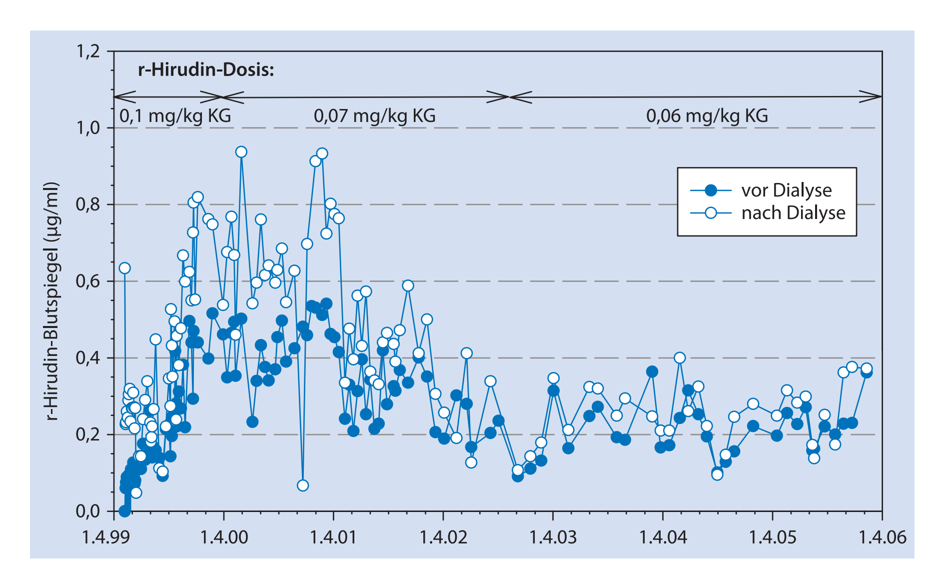



**Abb. 71.3.** Langzeitmonitoring der r-Hirudin-Antikoagulation einer Dialysepatientin (Ch. B., ca. 1.070 Dialysen) bei heparinbedingtem Antikörpersyndrom mittels ECT

Für das Monitoring wurden weitere quantitative Testverfahren (ELISA, Enzyme Immuno Assay [EIA]) entwickelt).

## Literatur

Lange U, Nowak G, Bucha E (2003) Ecarin Chromogenic Assay – A new method for quantitative determination of direct thrombin inhibitors like hirudin. Pathophysiol Haemost Thromb 33(4): 184–191

Liesenfeld KH, Schäfer HG, Troconiz IF, Tillmann C, Erikson BI, Stangier J (2006) Effects of the direct thrombin inhibitor dabigatran on ex vivo coagulation time in orthopaedic surgery patients: a population model analysis. Br J Clin Pharmacol 62: 527–37

Nowak G (2003) The Ecarin Clotting Time, a universal method to quantify direct thrombin inhibitors. Pathophysiol Haemost Thromb 33(4): 173–183

Nowak G, Bucha E (1996) Quantitative determination of hirudin in blood and body fluids. Semin Thromb Hemost 22: 197–202

Schöni R (2005) The use of snake venom-derived compounds for new functional diagnostic test kits in the field of haemostasis. Pathophysiol Haemost Thromb 34: 234–240

# 72 Monitoring von Vitamin-K-Antagonisten

*B. Kemkes-Matthes*



## Einleitung

Die Pharmakodynamik und -kinetik von Vitamin-K-Antagonisten zeigt eine erhebliche inter- und intraindividuelle Variabilität. Zusammen mit der geringen therapeutischen Breite ist dies der Grund, warum eine Therapie mit Vitamin-K-Antagonisten regelmäßig überwacht werden muss. Dazu wird die Thromboplastinzeit und die daraus abgeleitete International Normalized Ratio (INR) eingesetzt. Für die meisten Indikationen wird ein INR-Zielbereich von 2–3 angestrebt. Eine Ausnahme bilden mechanische Mitralklappenprothesen, die stärker antikoaguliert werden. Die Länge der Kontrollintervalle ist abhängig von der Stabilität der Einstellung. Bei stabiler Einstellung sind 4-wöchentliche Kontrollen ausreichend.



### Indikationen

Indikation zum Monitoring mittels Quick- bzw. INR-Wert besteht für alle Patienten unter Behandlung mit oralen Antikoagulanzien vom Typ der Kumarinderivate bzw. der Vitamin-K-Antagonisten (Phenprocoumon, Warfarin, Acenocoumarol).

### Testprinzip

Die Thromboplastinzeit wird durch die Aktivität von 3 der 4 Vitamin-K-abhängig synthetisierten prokoagulatorischen Gerinnungsfaktoren beeinflusst. Sie ist deswegen gut geeignet, die antikoagulatorische Wirkung der Vitamin-K-Antagonisten zu erfassen. Das Prinzip der Thromboplastinzeitbestimmung wird im Kapitel über die Globaltests ausführlich erläutert (▶ Kap. 62).

Die Interpretation der Thromboplastinzeit bzw. des Quick-Werts von Patienten unter oraler Antikoagulation war zunächst äußerst problematisch, da insbesondere bedingt durch unterschiedliche Thromboplastine keinerlei Vergleichbarkeit der Testergebnisse zwischen unterschiedlichen Laboratorien bestand und die Anzahl schwerwiegender Blutungskomplikationen hoch war. So konnte gezeigt werden, dass abhängig vom Wohnort des jeweiligen Patienten sehr unterschiedliche mittlere Warfarin-Dosierungen verordnet wurden – zwischen 2 und 8 mg Warfarin täglich. Die höchsten Dosierungen wurden in Gegenden, in denen die unempfindlichsten Thromboplastine verwendet wurden, verschrieben – z. B. in Nordamerika.

Wegen dieser Problematik erfolgten bereits 1962 erste Standardisierungsbemühungen durch die British Society of Haematology. In der Folgezeit wurde durch das International Committee on Thrombosis and Haemostasis und das International Committee for Standardization in Haematology die Standardisierung vorangetrieben, bis schließlich 1983 das sogenannte WHO International Standardization Schema entwickelt wurde.

Es beruht auf der Bildung der Prothrombinratio, die nach folgender Formel ermittelt wird:

$$\text{Prothrombinratio} = \frac{\text{Thromboplastinzeit Patientenplasma [s]}}{\text{Thromboplastinzeit Normalplasmapool [s]}}$$

Zur Berechung des International Normalized Ratio (INR) wird die Prothrombinratio mit einem Faktor korrigiert. Dieser »international sensitivity index« (ISI) gleicht Unterschiede zwischen verschiedenen Thromboplastinen und unterschiedlichen Messsystemen aus. Er wird durch Vergleichsmessungen des zu testenden Thromboplastins mit einem WHO-Standard ermittelt. Die Messungen werden an mindestens 20 Normalproben und Proben von 60 Patienten unter stabiler oraler Antikoagulation durchgeführt. Der ISI des ersten WHO-Standards beträgt 1,0. An ihm wurden alle folgenden WHO-Standards kalibriert.

**! Der INR-Wert ist ausschließlich in der stabilen Phase der oralen Antikoagulation mit Vitamin-K-Antagonisten zu verwenden.**

Er ermöglicht – anders als der Quick-Wert – den Vergleich von Messergebnissen verschiedener Laboratorien bzw. verschiedener Thromboplastinreagenzien. Allerdings ist auch der INR-Wert nicht völlig unempfindlich gegen äußere Einflüsse. So können z. B. unterschiedliche Analyzer oder die Anwesenheit von Heparin in der zu messenden Plasmaprobe dazu führen, dass INR-Werte aus derselben Plasmaprobe, gemessen mit unterschiedlichen Reagenzien, doch nicht identisch sind.

### Befundmitteilung und Dokumentation

Therapieentscheidend sind die INR-Werte und ihr zeitlicher Verlauf. In der täglichen Routine hat sich die Führung eines »OAC-Ausweises« bewährt (OAC = orale Antikoagulanzien), in den zusammen mit den INR-Werten die täglichen Tabletteneinnahmen eingetragen werden. Bei Therapiebeginn ist das zusätzliche Vermerken des Quick-Wertes hilfreich. Über die Messwerte hinaus sollte im Ausweis die Indikation zur Antikoagulanzienbehandlung und

der angestrebte therapeutische INR-Bereich dokumentiert werden.

In einigen Ländern hat sich eine EDV-gestützte Kontrolle der Vitamin-K-Antagonisten bewährt.

## Untersuchungsmaterial

Untersuchungsmaterial ist üblicherweise venöses Blut – entnommen nach möglichst kurzer venöser Stauzeit (max. 1 min) durch exakte Venenpunktion und mit ausreichend dicker Kanüle. Die ersten 2 ml des entnommenen Blutes sind zu verwerfen. Das zur Gerinnungsuntersuchung vorgesehene Blut wird anschließend bereits im Entnahmeröhrchen mit 3,8%-iger Natriumzitratlösung im Verhältnis 1:10 versetzt und sofort durch vorsichtiges Kippen des Entnahmeröhrchens vermischt. Die weitere Verarbeitung sollte in möglichst kurzem zeitlichem Abstand zur Blutentnahme erfolgen, und die Zentrifugation sollte bezüglich Dauer, Temperatur und Geschwindigkeit (10 min bei 1.500×g) standardisiert sein.

Alternativ kommt zur Quick- bzw. INR-Bestimmung Kapillarblut zum Einsatz, dies hauptsächlich im Patientenselbstmanagement mit den sogenannten Point-of-Care-Geräten.

## Referenzbereich

Der therapeutische INR-Bereich ist für jeden einzelnen Patienten abhängig von der Grunderkrankung und möglichen Begleiterkrankungen individuell festzulegen (Tab. 72.1).

**Tab. 72.1.** Indikationsbezogene empfohlene INR-Bereiche

| Indikation | INR-Zielbereich |
|---|---|
| Rezidivprophylaxe nach Phlebothrombose oder Lungenembolie | 2,0–3,0 |
| Vorhofflimmern, Arrhythmia absoluta | 2,0–3,0 |
| Zustand nach mechanischem Aortenklappenersatz | 2,0–3,0 |
| Zustand nach mechanischem Mitralklappenersatz* | 2,5–3,5 |

* In Abhängigkeit vom Klappentyp eventuell höherer INR-Bereich erforderlich

## Bewertung

Unter Therapie mit Vitamin-K-Antagonisten gelingt im optimalen Fall eine stabile Einstellung innerhalb des angestrebten INR-Zielbereiches mit konstanter täglicher Medikamentendosis des verordneten Vitamin-K-Antagonisten. Eine Bewertung der Antikoagulation ist durch die Bestimmung der »Zeit im therapeutischen Bereich« möglich (Veeger et al. 2005).

Durch vielfältige Einflüsse kann es zu Schwankungen des INR-Werts kommen, so z. B. durch:

- Auftreten zusätzlicher Erkrankungen,
- Verordnung zusätzlicher Medikamente oder Wegfall von Dauermedikamenten,
- Veränderungen der Lebensumstände.

Ernährung spielt bei Schwankungen in der Einstellung mit Vitamin-K-Antagonisten keine so große Rolle wie bisher angenommen. Inzwischen ist sogar bekannt, dass Patienten, die konstant relativ viel Vitamin K zu sich nehmen, stabiler eingestellt sind als Patienten, die Vitamin-K-haltige Lebensmittel strikt meiden (Sconce et al. 2005).

Zur Bewertung der Frage, ob bei individuellen Patienten der aktuelle INR-Wert ausreichend ist im Hinblick auf die angestrebte Gerinnungshemmung, kann über den INR-Wert hinaus der D-Dimer-Wert als zusätzlicher Parameter hinzugezogen werden.

## Literatur


Bauersachs R (2003) Therapie und Sekundärprophylaxe der venösen Thromboemboile mit Vitamin-K-Antagonisten. Internist 44: 1491–1499

Barthels M, von Depka M (2003) Gerinnungskompendium. Stuttgart: Thieme

Kemkes-Mattes B, Oehler G (2001) Blutgerinnung und Thrombose, 3. Aufl. Stuttgart: Thieme

Oldenburg J (2006) Aktuelle und zukünftige Entwicklungen in der Hämostaseologie. Hämostaseologie 26: 13–21

Poller L (2004) International Normalized Ratios (INR): the first 20 years. J Thromb Haemost 2: 849–60

Sconce E, Khan T, Mason J, Noble F, Wynne H, Kamali F (2005) Patients with unstable control have a poorer dietary intake of vitamin K compared to patients with stable control of anticoagulation. Thromb Haemost 93: 872–875

Veeger NJGM, Piersma-Wichers M, Tissen JPG, Hillege HL, van der Meer J (2005) Individual time within the target range in patients trteated with vitamin K antagonists: main determinant of quality of anticoagulation and predictor of clinical outcome. A retrospective study of 2300 consequtive patients with venous thromboembolism. Brit J Haematol 128: 513–519

# 73 Durchflusszytometrie

*V. Oberle, M. Soßdorf, W. Lösche*



## Einleitung

Die Durchflusszytometrie ist eine Methode, bei der die Bindung von fluoreszenzmarkierten Molekülen an einzelne Zellen analysiert wird. Durch den Einsatz von fluoreszenzmarkierten monoklonalen Antikörpern, die Strukturen auf der Oberfläche der Thrombozyten erkennen, können Blutproben von Patienten Informationen über die Expression wichtiger Rezeptoren (z. B. GP IIb-IIIa, GP Ib-V-IX) liefern. Der Nachweis von aktivierungsabhängigen Antigenen (z. B. P-Selektin) oder Phospholipiden (Phosphatidylserin) kann zur Diagnostik einer heparininduzierten Thrombozytopenie (HIT) oder einer In-vivo-Thrombozytenaktivierung genutzt werden. Die Durchflusszytometrie ist auch in der Lage, eine Beladung der Thrombozyten mit Auto- und Alloantikörpern nachzuweisen.

Probleme der durchflusszytometrischen Untersuchungen von Thrombozyten, die bislang mit wenigen Ausnahmen noch nicht zur Routinediagnostik gehören, liegen v. a. in der Standardisierung der Probenvorbereitung, der Auswertung und der Erstellung von Referenzbereichen.



### Indikationen

Durchflusszytometrische Untersuchungen der Thrombozyten werden routinemäßig in spezialisierten Labors v. a. zur Diagnostik folgender Erkrankungen eingesetzt:

- immunologisch bedingte Thrombozytopenien einschließlich HIT,
- angeborene und erworbene Thrombozytopathien.

Bislang auf Forschungslabors begrenzt ist der Einsatz der Durchflusszytometrie zum Nachweis einer erhöhten Thrombozytenaktivität, d. h. der Nachweis von aktivierten Thrombozyten in der Zirkulation sowie eine erhöhte Aktivierbarkeit der Thrombozyten nach In-vitro-Stimulierung.

### Testprinzip

Bei der Durchflusszytometrie werden Zellen (und auch zelluläre Mikrovesikel) einer Zellsuspension (z. B. Blut, Liquor, isolierte Zellen) einzeln an einem Laserstrahl vorbei geführt. Bei Passage des Lichtstrahls entsteht Streulicht: Vorwärtsstreulicht (»forward scatter«), das eine Aussage über die Größe der Zelle erlaubt, und Seitwärtsstreulicht (»side scatter«), das Informationen über die Kompartimentierung (Granularität) einer Zelle liefert. Damit lassen sich in einer Vollblutprobe bereits die verschiedenen Zelltypen voneinander abgrenzen.

Da sich die Blutzellen erheblich in ihrer Größe unterscheiden, bieten Durchflusszytometer die Möglichkeit, Streulicht entweder auf einer logarithmischen oder einer linearen Skala darzustellen. Die logarithmische Einstellung eignet sich für die Darstellung von Thrombozyten, Erythrozyten und Mikropartikeln (▶ Kap. 10), die lineare für Leukozyten.

Moderne Durchflusszytometer verfügen neben den Streulichtdetektoren über mehrere Laser und Fluoreszenzlichtdetektoren, die Licht bei unterschiedlicher Wellenlänge aussenden bzw. emittiertes Fluoreszenzlicht erfassen. Durch den Einsatz von Antikörpern, die mit verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen (z. B. FITC, Phycoerythrin, PerCP) markiert sind, kann innerhalb einer Probe die Präsenz mehrerer unterschiedlicher Oberflächenantigene auf den Zellen nachgewiesen werden. Durch Verwendung von Antikörpern, die zellspezifische Antigene erkennen, können Zellen in einem Zellgemisch (z. B. Blutproben) eindeutig identifiziert und von anderen Zellen abgegrenzt werden. Zur Identifizierung der Thrombozyten werden v. a. Antikörper gegen Komponenten der Glykoprotein-Komplexe Ib-V-IX oder IIb-IIIa eingesetzt (▣ Abb. 73.1).

### Messgrößen

Messgröße in der Durchflusszytometrie ist für die meisten Fragestellungen die Fluoreszenz der an die Zellen gebundenen Antikörper. Die Fluoreszenzintensität der selektierten Zellen wird dabei entweder als arithmetischer Mittelwert, geometrischer Mittelwert oder als Median angegeben. Die Fluoreszenzintensität ist der Menge der gebundenen Antikörper und damit der Anzahl der Antigenmoleküle auf der Zelloberfläche (z. B. Anzahl der GP-IIb-IIIa-Moleküle) direkt proportional. Durch den Einsatz von »Kalibrierungspartikeln«, die in ihrer Größe den Thrombozyten vergleichbar und mit definierten Mengen des zu messenden Antigens oder des entsprechenden Antikörpers beschichtet sind, kann nach Erstellen einer Kalibrierungskurve die Anzahl der Antigenmoleküle auf der Thrombozytenoberfläche berechnet werden.

Eine weitere Messgröße der Durchflusszytometrie ist die prozentuale Anzahl der positiven Zellen (Zellen mit einer Fluoreszenzintensität oberhalb eines Schwellenwerts, der einer unspezifischen Antikörperbindung entspricht). Dieser Parameter wird v. a. bei der Bestimmung von Akti-

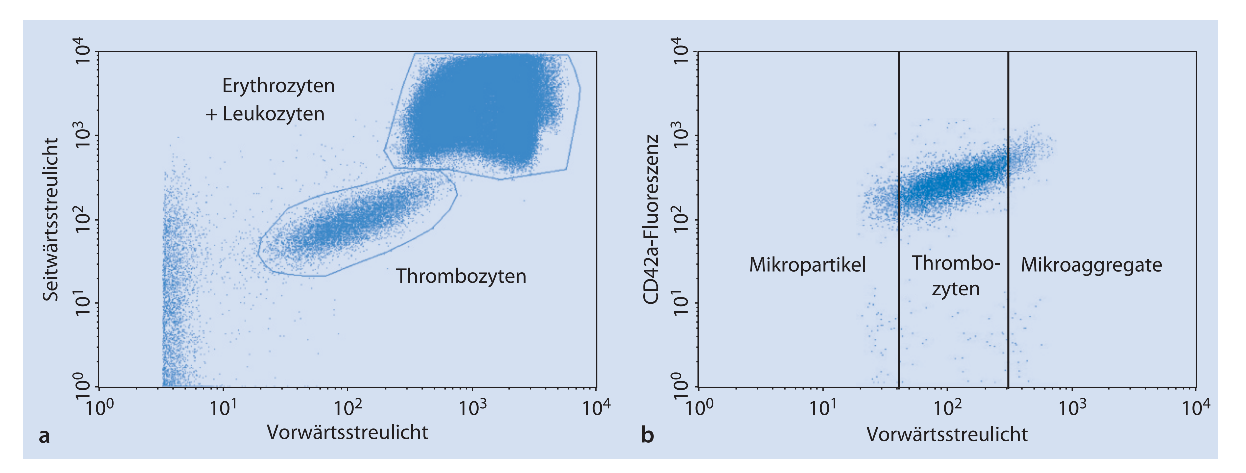



**Abb. 73.1a,b.** Durchflusszytometrie einer Vollblutprobe eines gesunden Probanden. **a** Vorwärts-/Seitwärtsstreulichtdiagramm mit »gating« der Thrombozyten, Erythrozyten und Leukozyten, **b** Darstellung der CD42a-positiven Ereignisse im »Thrombozyten-Gate« mit Markierung der Ereignisse unterhalb und oberhalb der 5%- bzw. 95%-Grenze des Vorwärtsstreulichts

vierungsmarkern (z. B. P-Selektin), die erst nach Thrombozytenaktivierung auf der Oberfläche nachweisbar sind, verwendet.

Die Durchflusszytometrie erlaubt auch Aussagen über das Vorhandensein von thrombozytären Mikroaggregaten, die nur aus wenigen Thrombozyten bestehen, und von Mikropartikeln (▶ Kap. 10) sowie von heterotypischen Thrombozyten-Leukozyten-Konjugaten. Bei der Quantifizierung von Mikroaggregaten und Mikropartikeln geht man davon aus, dass in Blutproben gesunder Personen von den durchflusszytometrisch erfassten Thrombozyten die Ereignisse mit dem geringsten Vorwärtsstreulicht den Mikropartikeln und die Ereignisse mit dem größten Vorwärtsstreulicht den Mikroaggregaten entsprechen (Abb. 73.1).

Durch Festlegung von Grenzen entsprechend den Daten gesunder Probanden (z. B. ein Anteil von 90% singulärer Thrombozyten an den gesamten erfassten Thrombozyten) können in Patientenproben die Anzahl der Mikropartikel und Mikroaggregate ermittelt werden (Villmov et al. 2002). Die Anzahl der Mikropartikel und Mikroaggregate können dabei als Prozent aller gemessenen thrombozytären Ereignisse oder als absolute Zahlen angegeben werden. Für letztere ist es notwendig, den Proben eine definierte Menge Kalibrierungspartikel zuzusetzen, die parallel zu den thrombozytären Ereignissen gezählt werden.

Thrombozyten-Leukozyten-Konjugate, die als ein Indikator der Thrombozytenaktivierung und einer Verbindung zwischen Hämostase und Inflammation angesehen werden, lassen sich in der linearen Einstellung für das Vorwärtsstreulicht als thrombozytenpositive Ereignisse erkennen. Sie weisen nicht nur die Charakeristika von Granulozyten, Monozyten oder Lymphozyten auf, sondern binden auch einen thrombozytenspezifischen Antikörper (z. B. Anti-CD42a oder Anti-CD41a).

## 73.1 Anwendung zur Diagnostik thrombozytärer Störungen

### 73.1.1 Immunologisch bedingte Thrombozytopenien

#### Nachweis thrombozytenassoziierter Antikörper

Auto- und Alloantikörper können unspezifisch oder spezifisch an der Thrombozytenoberfläche binden und damit zu einer Aktivierung und/oder beschleunigten Eliminierung der Thrombozyten führen, was letztlich in einer Thrombozytopenie resultiert (▶ Kap. 30.2).

**! Die häufigsten Antigene, gegen die sich die Auto- und Alloantikörper richten, sind GP IIb-IIIa, GP Ib-IX und HLA Klasse 1.**

Die an die Antigene gebundenen Antikörper lassen sich mittels Durchflusszytometrie durch den Einsatz fluoreszenzmarkierter Antikörper, die verschiedene Immunglobulinklassen erkennen, nachweisen. Eine Methode, bei der gleichzeitig der Antikörpertyp und das thrombozytäre Antigen identifiziert werden kann, wird als SASPA (»simultaneous analysis of specific platelet antibodies«; Nguyen u. Klüter 2006) bezeichnet. Das Prinzip dieser Methode ist in Abb. 73.2 schematisch dargestellt.

#### Heparininduzierte Thrombozytopenie (HIT)

Bei der HIT-Diagnostik wird die Aktivierung der Thrombozyten durch den Komplex aus HIT-Antikörper, Heparin und Plättchenfaktor 4 nachgewiesen. Kontrollthrombozyten einer gesunden Person werden mit Heparin und Serum des Patienten mit HIT-Verdacht inkubiert. Bei positivem Befund kann durchflusszytometrisch eine starke Expression des Aktivierungsmarkers P-Selektin (CD62-P)

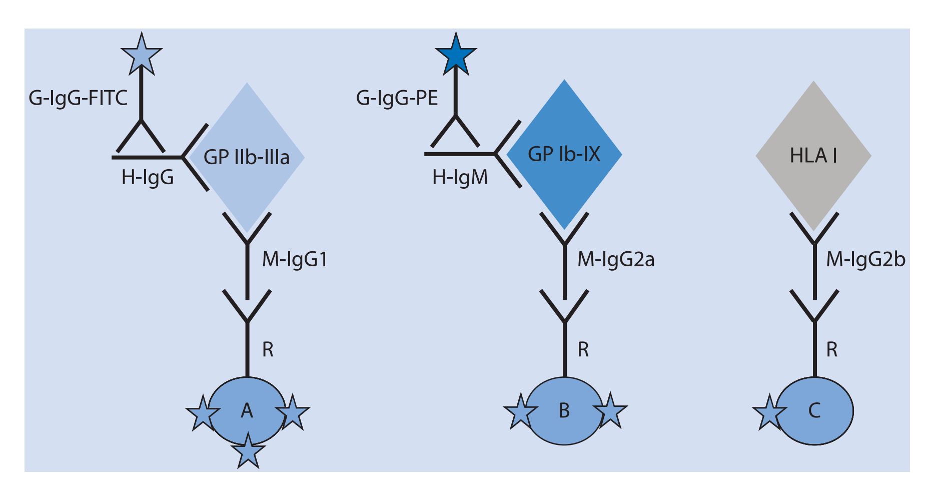





**Abb. 73.2.** Prinzip der SAPSA zum Nachweis einer thrombozytären Antikörperbeladung. *A–C* Fluoreszenzmarkierte Partikel mit unterschiedlicher Fluorophormenge; *R* monoklonale Rattenantikörper, die gegen unterschiedliche Mausantikörperisotypen ($IgG_1$, $IgG_{2a}$ und $IgG_{2b}$) gerichtet sind. Die Mausantikörper binden an die thrombozytären Oberflächenantigene *GP IIb-IIIa*, *GP Ib-IX* oder *HLA-1*. *H-IgG* und *H-IgM* sind die nachzuweisenden Auto- oder Alloantikörper des Patienten. *G-IgG-FITC* und *G-IgG-PE* sind Antikörper aus der Ziege, die H-IgG und H-IgM erkennen. Bei durchflusszytometrischer Analyse der Probe würde man in der Population mit der höchsten Partikelfluoreszenz ein positives Signal für einen IgG-Antikörper gegen GP IIb-IIIa und in der Population mit einer mittleren Partikelfluoreszenz ein positives Signal für einen IgM-Antikörper gegen GP Ib-IX finden

nachgewiesen werden (Jy et al. 1999). Ähnlich wie bei anderen Tests sind entsprechende Positiv- und Negativkontrollen durchzuführen (▶ Kap. 61).

## 73.1.2 Thrombozytopathien

Eine breite Anwendung findet die Durchflusszytometrie in der Diagnostik von Thrombozytopathien (Linden et al. 2004). Bei der Thrombasthenie Glanzmann, einem Defekt des GP-IIb-IIIa-Komplexes, sowie beim Bernard-Soulier-Syndrom, einem Defekt des GP-Ib-V-IX-Komplexes (▶ Kap. 30.3), kann durch Einsatz von monoklonalen Antikörpern die Expression der Komplexe auf den Thrombozyten der Patienten bestimmt werden. Auch eine verminderte Expression anderer Oberflächenrezeptoren mit Bedeutung für die Thrombozytenfunktion (z. B. Kollagen- und ADP-Rezeptoren), lassen sich in analoger Weise durchflusszytometrisch nachweisen.

Auch Störungen der sekretorischen Thrombozytenaktivität, z. B. »storage pool disease« oder erworbene Defekte (▶ Kap. 9 und 30.3), können durchflusszytometrisch nachgewiesen werden. Dazu werden Antigene, die im Rahmen des Sekretionsprozesses von intrathrombozytären Granula an die Zelloberfläche transloziert werden (z. B. P-Selektin = CD62P; CD63), durch entsprechende Antikörper dargestellt. Bei gestörter Sekretion sind diese Antigene nach Aktivierung der Thrombozyten (z. B. Inkubation einer Vollblutprobe mit ADP oder Kollagen) an der Oberfläche nicht oder – im Vergleich zu einer Kontrollprobe eines gesunden Probanden – vermindert nachweisbar.

Eine andere Möglichkeit, Sekretionsdefekte nachzuweisen, besteht darin, Thrombozyten mit fluoreszierenden Substanzen (z. B. Mepacrin), die in den intrazellulären Granula gespeichert und bei Aktivierung sezerniert werden, zu beladen. Bei gestörter Sekretion kommt es hier zu keiner oder einer verminderten Abnahme der thrombozytenassoziierten Fluoreszenz (Ramström et al. 1999).

## 73.1.3 Nachweis einer In-vivo-Aktivierung der Thrombozyten

Erkrankungen mit einem erhöhten thromboembolischen Risiko, z. B. das akute koronare Syndrom, Zustand nach Schlaganfall, maligne Tumore oder Sepsis, gehen oft mit einer In-vivo-Thrombozytenaktivierung und/oder einer erhöhten Reaktivität der Thrombozyten einher. Als Indikatoren einer stattgefundenen Thrombozytenaktivierung können die in der Übersicht dargestellten durchflusszytometrisch bestimmbaren Parameter genutzt werden (Lösche u. Heptinstall 2007). Die aufgeführten Untersuchungen haben jedoch noch keinen Eingang in die klinische Diagnostik gefunden und kommen bislang nur in wissenschaftlichen Studien zur Anwendung.

**Parameter zur durchflusszytometrischen Bestimmung einer Thrombozytenaktivierung**

- Expression von CD62P und CD63
- Bindung von Fibrinogen an die Thrombozytenoberfläche, nachgewiesen durch einen Antifibrinogenantikörper
- Bindung des monoklonalen Antikörpers PAC-1, der ein Neoepitop des GP-IIb-IIIa-Komplexes auf aktivierten Thrombozyten erkennt; dieses Epitop ist nicht auf nicht aktivierten Thrombozyten vorhanden
- Bindung von Annexin V an negativ geladene Phospholipide, die neben der Tissue-Factor-Expression für die prokoagulatorische Aktivität der Thrombozyten verantwortlich sind
- heterotypische Thrombozyten-Leukozyten-Konjugate: aktivierte Thrombozyten und thrombozytäre Mikrovesikel (► Kap. 10) adhärieren in einem CD62P-vermittelten Prozess an Monozyten und Granulozyten
- Mikroaggregate und Mikropartikel können wie in ◘ Abb. 71.1 dargestellt als die Bereiche mit den größten bzw. kleinsten thrombozytenspezifischen Ereignissen ermittelt werden

## Untersuchungsmaterial, Befundmitteilung, Referenzbereiche und Qualitätskontrolle

Für die aufgeführten Untersuchungen gibt es bislang noch keine verbindlichen Standards. Dementsprechend unterscheiden sich die Anforderungen an das Untersuchungsmaterial und die Art der Befundmitteilung. Die meisten Labore, die entsprechende Untersuchungen anbieten, erarbeiten sich eigene Referenzbereiche für gesunde Kontrollpersonen. Die notwendige Qualitätskontrolle betrifft einerseits eine regelmäßige Überprüfung der Geräteeinstellungen mittels standardisierter fluoreszenzmarkierter Partikel, andererseits die Einbeziehung von positiven und negativen Kontrollansätzen (z. B. parallele Untersuchung der Thrombozyten einer gesunden Kontrollperson bzw. Verwendung unspezifischer, aber isotypgleicher Antikörper für die Korrektur der Fluoreszenzintensität mit der unspezifischen Antikörperbindung.

## Literatur

Jy W, Mao WW, Horstman LL, Valant PA, Ahn YS (1999) A flow cytometric assay of platelet activation marker P-Selectin (CD62p) distinguishes heparin-induced thrombocytopenia (HIT) from HIT with thrombosis (HITT) Thromb Haemost 82: 1255–9

Linden MD, Frelinger AL 3rd, Barnard MR, Przyklenk K, Furman MI, Michelson AD (2004) Application of flow cytometry to platelet disorders. Semin Thromb Hemost 30: 501–11

Lösche W, Heptinstall S (2007) Value of platelet activation markers as prothrombotic risk indicators. Transfus Med Hemother 34: 34–42

Nguyen XD, Klüter H (2006) The SASPA (Simultaneous Analysis of Specific Platelet Antibodies) Assay: Implementation and Performance in the Routine Laboratory Use. Transfus Med Hemother 33: 254–9

Ramström AS, Fagerberg IH, Lindahl TL (1999) A flow cytometric assay for the study of dense granule storage and release in human platelets. Platelets 10: 153–8

Villmow T, Kemkes-Matthes B, Matzdorff AC (2002) Markers of platelet activation and platelet-leukocyte interaction in patients with myeloproliferative syndromes. Thromb Res 108: 139-45

# 74 Molekulargenetik

*J. Müller, J. Bach*

## Einleitung

Molekulargenetische Untersuchungsverfahren werden in der Diagnostik von hereditären Hämostasestörungen zum Nachweis des zugrunde liegenden Mutationstyps eingesetzt. Eine weitere Indikation stellt der Nachweis von somatischen Mutationen, wie z. B. der JAK2-Mutation dar. Das Spektrum der eingesetzten Untersuchungsverfahren ist breit und reicht von der konventionellen PCR bis zur Komplettsequenzierung einzelner Gene. Ausgangsmaterial für die Untersuchung ist genomische DNA, die aus peripheren Lymphozyten isoliert wird. Die Bewertung der Befunde erfolgt anhand der in der Normalbevölkerung überwiegend vorliegenden Wildtyp-Konstellation und der idealerweise studienbasierten Einschätzung des patientenspezifischen Risikos auf Basis des gefundenen Genotyps.



## 74.1 Indikationen

### 74.1.1 Untersuchung hereditärer Hämostasestörungen

Eine Vielzahl genetischer Veränderungen, die zu einer Beeinträchtigung der Hämostase führen, wurden in den letzten Jahren beschrieben. Zumeist handelt es sich dabei um Veränderungen im Bereich von DNA-Sequenzen, die für einen Blutgerinnungsfaktor oder ein an der Hämostase beteiligtes Protein kodieren. Neben Insertionen und Deletionen, die zu einer Verschiebung des Leserasters und damit meist zum Verlust der Proteinfunktion führen, sind es v. a. Punktmutationen, die zu einer veränderten Proteinsynthese führen. Veränderungen im Bereich der regulatorischen Sequenz führen in der Regel zu quantitativen Veränderungen der Genexpression. Entsteht durch eine Mutation ein neues STOPP-Codon, so führt dies zu einem Abbruch der Proteinsynthese. Wird aufgrund einer Punktmutation an der entsprechenden Stelle im Protein eine andere Aminosäure eingebaut (Missense-Mutation), so führt dies häufig zu einer qualitativen Änderung der Proteinfunktion: das Protein wird zwar in ausreichender Menge synthetisiert, hat aber unter Umständen geänderte Eigenschaften.

Prinzipiell kann jedes Gen überall in seiner DNA-Sequenz mutieren. Um solche Veränderungen zu erkennen, muss die komplette Sequenz eines oder mehrerer Gene eines Menschen ermittelt werden. Trotz technischen Fortschritts und des zur Verfügung stehenden Wissens über die kompletten Erbanlagen des Menschen (Genom) eignen sich die heute zur Verfügung stehenden Techniken jedoch nicht für ein Routine-Screening.

### 74.1.2 Untersuchung von Genpolymorphismen als Risikofaktoren für komplexe Erkrankungen

Die Bedeutung von Genpolymorphismen der Hämostase als Risikomarker für komplexe Erkrankungen ist Gegenstand zahlreicher klinischer Studien. Basierend auf der Pathophysiologie einer Erkrankung wird dabei die Häufigkeit eines bestimmten Genpolymorphismus bei Patienten und bei nicht betroffenen Personen untersucht. Wird ein Genpolymorphismus (unabhängig von möglichen anderen Einflussgrößen) häufiger in der Patientengruppe gefunden, so bezeichnet man diesen als Risikomarker oder bei Kenntnis des Pathomechanismus als Risikofaktor für diese Erkrankung. Sehr gut dokumentierte Beispiele sind die Faktor-V-Leiden-Mutation (Bertina et al. 1994) oder eine Mutation im Prothrombingen an Position 20210 (Poort et al. 1996), deren Analyse als etablierte Risikofaktoren der venösen Thromboembolie Eingang in das Routinescreening bei den entsprechenden Patienten gefunden haben.

Zur Untersuchung von Genpolymorphismen als Risikofaktoren für komplexe Erkrankungen stehen verschiedene Herangehensweisen zu Verfügung. Steht beispielsweise ein erhöhter Plasmaspiegel eines Gerinnungsfaktors mit einem erhöhten Risiko einer venösen Thrombembolie im Zusammenhang, so werden im Rahmen einer Fallkontrollstudie die Plasmakonzentrationen bei einer Vielzahl von Patienten bestimmt und die DNA-Sequenz des entsprechenden Kandidatengens untersucht. Werden so genetische Varianten identifiziert, die direkt mit einem erhöhten Plasmaspiegel eines Gerinnungsfaktors assoziiert sind, lässt sich anhand der Verteilung von Mutationsträgern in der Fall- und der Kontrollgruppe das relative Risiko für eine entsprechende Erkrankung darstellen. Eine häufige Mutation des Prothrombingens (20210 G→A ) führt zu einem um etwa 20% erhöhten Plasmaspiegel des Faktor II. Bei heterozygoten Mutationsträgern wurde ein um den Faktor 3 erhöhtes Risiko für eine venöse Thromboembolie

ermittelt, bei Homozygoten liegt das Risiko deutlich höher (Poort et al. 1996).

Liegt kein eindeutiger Zusammenhang zwischen einer einzelnen Genvariante und einem entsprechenden risikoassoziierten Phänotyp vor, so wird zunächst im Rahmen von Kopplungsanalysen versucht, geeignete Kandidatengene zu identifizieren. Dabei werden über aufwendige Familienuntersuchungen über mehrere Generationen hinweg genetische Marker identifiziert, die mit einem definierten Phänotyp in Zusammenhang stehen. Da die chromosomale Lokalisation der zur Verfügung stehenden genetischen Marker bekannt ist, lassen sich so Bereiche des menschlichen Genoms eingrenzen, in denen entsprechende den Phänotyp beeinflussende Gene und deren Varianten lokalisiert sind.

## 74.2 Testprinzipien

### 74.2.1 Nachweis bekannter Mutationen mittels konventioneller PCR-Verfahren

#### Amplifikation von Zielsequenzen mittels PCR

Um relevante Mutationen identifizieren zu können, muss zunächst eine ausreichende Menge des zu untersuchenden Materials, in diesem Fall definierte Abschnitte der DNA, bereitgestellt werden. Im ersten Schritt erfolgt somit eine Isolierung genomischer DNA, häufig aus peripherem Blut. Mithilfe der Polymerasekettenreaktion (engl. »polymerase chain reaction«, PCR) erfolgt anschließend eine exponentielle Vervielfältigung (Amplifikation) der meist nur in geringem Maßstab zur Verfügung stehenden Ausgangs-DNA (Mullis et al. 1986).

#### Nachweis kleinerer Insertionen oder Deletionen

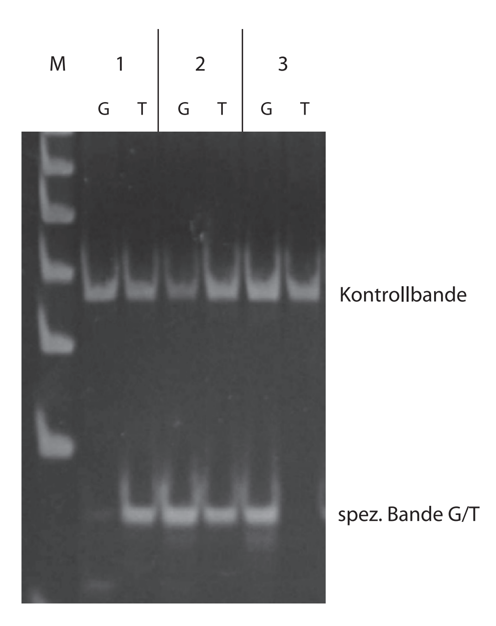
Zur Untersuchung von Insertions- oder Deletionsmutationen werden die nach der PCR zur Verfügung stehenden DNA-Fragmente auf ein Agarose- oder Polyacrylamidgel aufgetragen und entsprechend ihrer Größe elektrophoretisch aufgetrennt. Trägt man ebenfalls einen DNA-Längenstandard, d. h. eine Probe von Nukleinsäurefragmenten definierter Größen, auf das Gel auf, lässt sich die Größe der zu untersuchenden DNA relativ genau bestimmen und so eine Insertion anhand des Vorliegens einer im Vergleich zum Wildtyp größeren Bande bzw. eine Deletion anhand des Vorhandenseins eines kleineren Fragments relativ einfach erkennen. Bei der Verwendung von Polyacrylamidgelen können unter optimalen Bedingungen selbst Insertionen bzw. Deletionen einzelner Basen identifiziert werden (Lohmann et al. 1992).

#### Amplifikation mit sequenzspezifischen Primern (PCR-SSP)

Bei der Untersuchung einer Mutation mittels sequenzspezifischer Primer (SSP) werden Unterschiede in der DNA-Sequenz direkt für eine jeweils spezifische Amplifikation in der PCR genutzt. Kann das 3'-Ende eines PCR-Primers z. B. aufgrund einer Punktmutation nicht vollständig an die Ausgangs-DNA binden, so ist eine Amplifikation inhibiert. Verwendet man in einer zweiten PCR einen Primer mit einem zur Mutation komplementären 3'-Ende, so lässt sich anhand des daraus resultierenden Bandenmusters nach Gelelektrophorese der entsprechende Genotyp ohne weitere Arbeitsschritte direkt bestimmen (Newton et al. 1989). Zum Ausschluss einer inhibierten PCR-Reaktion als Ursache für ein fehlendes PCR-Produkt empfiehlt sich die Verwendung einer internen, von der jeweiligen Mutation unabhängigen Kontrollreaktion, die in jedem Fall zu einem PCR-Produkt definierter Größe führt (◘ Abb. 74.1; Hou et al. 1996).

#### Nachweis von Mutationen mittels sequenzspezifischer Oligodeoxynukleotide (PCR-SSO)

Das Vorhandensein einer bekannten Mutation lässt sich auch durch die Hybridisierung sequenzspezifischer Oligodeoxynukleotide (SSO) erkennen. Dabei wird die amplifizierte, doppelsträngige DNA denaturiert, auf einer Oberfläche immobilisiert und die Bindung sequenzspezifischer Sonden nach Hybridisierung detektiert (Vary et al. 1996). Umgekehrt werden bei der reversen Hybridisierung allel-




◘ **Abb. 74.1.** Darstellung des FXIII-Val34Leu-Genpolymorphismus mittels PCR-SSP. Ein Austausch von Guanin (G) nach Thymin (T) in Codon 34 in Exon 2 führt zu einem Austausch der Aminosäure Valin durch Leucin. *1* Genotyp T/T: (Leu/Leu); *2* Genotyp G/T: (Val/Leu); *3* Genotyp G/G (Val/Val); *M* Längenmarker (50 bp ladder)

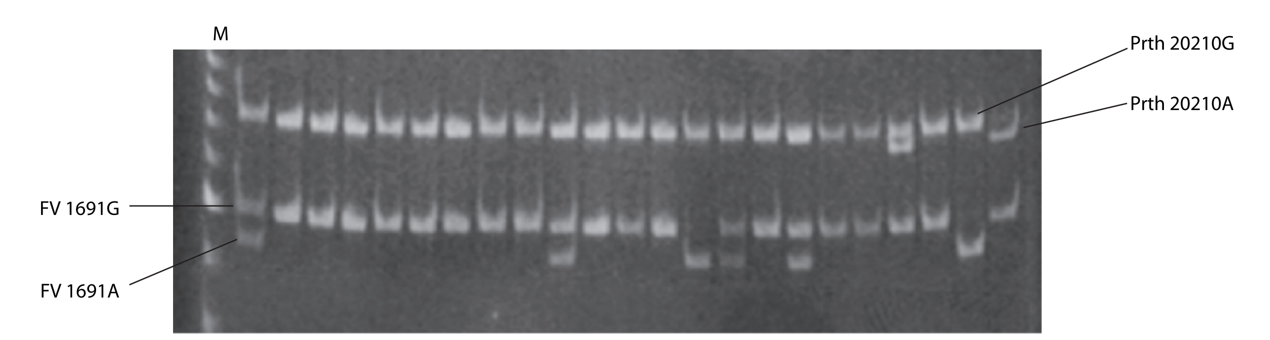



**Abb. 74.2.** Untersuchung der FV-Leiden-Mutation (FV G1691A) und des Prothrombin-G20210A-Polymorphismus mittels Multiplex-PCR-RFLP. Darstellung der Bandenmuster nach Verdau mit der Endonuklease HindIII in 6%igen Polyacrylamidgel. *M* Längenmarker (50 bp ladder)



spezifische Sonden immobilisiert und denaturierte PCR-Produkte gegen diese hybridisiert (Kowalski et al. 2000).

In beiden Fällen wird nur bei kompletter, komplementärer Übereinstimmung der Sequenzen von Sonde und PCR-Produkt ein Signal detektiert, das Aufschluss über den vorliegenden Genotyp gibt. Auf Basis der reversen Hybridisierung stehen heute verschiedene Systeme zur Verfügung, welche die parallele Detektion einer Vielzahl genetischer Varianten erlauben (Bier et al. 2008; Dunbar 2006).

#### Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismus-Analyse (PCR-RFLP)

Entsteht durch eine Mutation eine neue Schnittstelle für ein Restriktionsenzym oder geht durch eine Mutation eine Schnittstelle verloren, so wird dies nach Verdau des PCR-Produkts mit dem entsprechenden Restriktionsenzym und anschließender Elektrophorese anhand unterschiedlicher Fragmentgrößen erkannt (Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismus, RFLP; Chaing et al. 1994). Optimiert man die verwendeten Primersequenzen, so können auch verschiedene RFLP in einer Multiplex-PCR mit anschließendem Restriktionsverdau in einem einzigen Reaktionsansatz durchgeführt werden (Abb. 74.2; Duperat et al. 1998; Baris et al. 2004).

### 74.2.2 Nachweis bekannter Mutationen mittels Real-Time-PCR-Verfahren

Bei der Real-Time-PCR erfolgen Amplifikation und Messung der Zunahme des entsprechenden PCR-Produkts gleichzeitig in einem einzigen Ansatz. Im Verlauf einer PCR wird fortlaufend doppelsträngige DNA synthetisiert. Im Real-Time-Cycler wird dies in Echtzeit durch die Generation entsprechender Fluoreszenzsignale erfasst (Mackay 2007). Aufgrund dieser Eigenschaften stellt die Real-Time-PCR die Methode der Wahl zum quantitativen Nachweis von DNA/cDNA, z. B. im Rahmen von Genexpressionsstudien, dar (siehe Übersichtsarbeit von Vanguilder et al. 2008).

Des Weiteren können alle in der Literatur beschriebenen Real-Time-PCR-Strategien auch zum Nachweis von bekannten Punktmutationen eingesetzt werden, wobei hier der quantitative Charakter dieser Methode in den Hintergrund tritt und die entsprechende Genotypisierung vorwiegend auf Basis qualitativer bzw. semiquantitativer Analysen im Rahmen von Fluoreszenzendpunktmessungen bzw. Schmelzpunktanalysen erfolgt (Mackay 2004). Eine Ausnahme bildet hier der Nachweis der Mutation G1849T (Val617Phe) im Gen der Janus-Kinase-2 (JAK2). Hierbei handelt es sich um eine erworbene, somatische Mutation, die mit einer vermehrten Bildung von Erythrozyten (Polycythaemia vera) bzw. Thrombozyten (essenzielle Thrombozythämie) einhergehen und somit ein erhöhtes Thromboserisiko beinhalten kann (Kralovics et al. 2005). Da nur ein Teil der zur Untersuchung eingesetzten Blutzellen betroffen sein kann, erfolgt der Nachweis der Mutation bei Einsatz von Real-Time-PCR-Verfahren in der Regel durch Auswertung des über die Amplifikation erhaltenen Fluoreszenzverlaufs. Dies erlaubt einen im Vergleich zu Endpunktmessungen sensitiveren Nachweis der mutierten Zielsequenz (Wolstencroft et al. 2007).

Unabhängig von der zugrunde liegenden Fragestellung bietet die Anwendung der Real-Time-PCR den Vorteil eines Closed-Tube-Formats, da zur Durchführung der Analyse im Gegensatz zu konventionellen PCR-Verfahren ein Öffnen der Reaktionsgefäße nach der Amplifikation nicht notwendig ist. Neben der Reduktion der Anzahl durchzuführender Verfahrensschritte wird hierdurch auch das Risiko einer Kontamination mit Amplifikaten vorhergehender Untersuchungen minimiert, was wesentlich zur Verhinderung von Fehldiagnosen aufgrund von Probenverwechslungen bzw. Amplifikatkontaminationen beiträgt (Mackay 2007).

#### Verwendung DNA-interkalierender Fluoreszenzfarbstoffe

Farbstoffe wie Ethidiumbromid oder SYBR® Green interkalieren in doppelsträngige DNA und weisen hierdurch ein deutlich erhöhtes Emissionssignal nach Anregung der Flu-

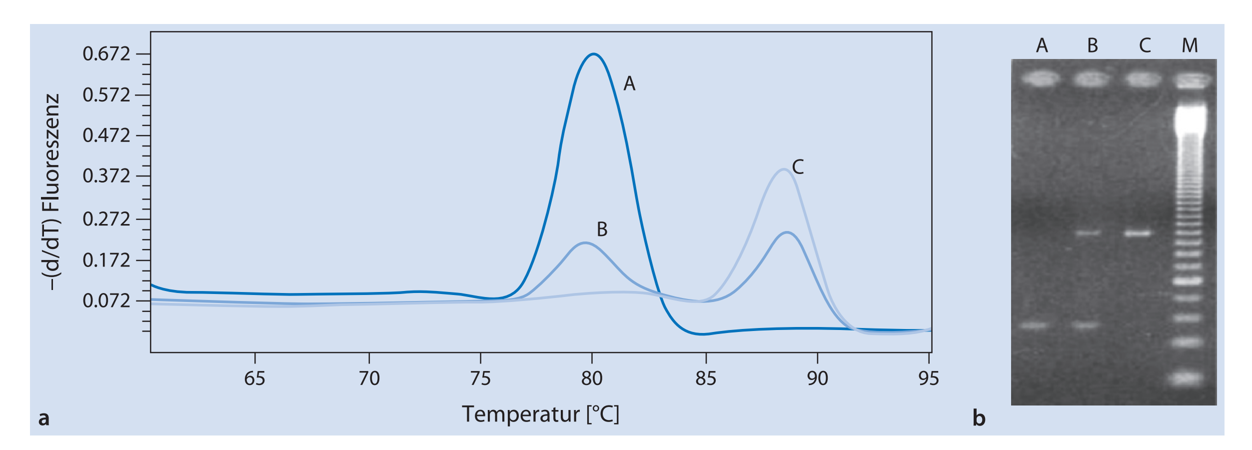



**Abb. 74.3a,b.** Darstellung eines Insertions (I)-/Deletions (D)-Polymorphismus im Intron h des tPA-Gens. **a** Schmelzkurvenanalyse. Dargestellt ist die negative erste Ableitung des Fluoreszenzsignals [-(d/dT)] in Abhängigkeit von der Temperatur, die Schmelzpunkte der Amplifikate erscheinen als Maxima. *A* D/D-Genotyp, Schmelztemperatur 80,2°C; *B* I/D-Genotyp, Schmelztemperatur 80,2°C und 89,2°C; *C* I/I-Genotyp, Schmelztemperatur 89,2°C. **b** Auftrag der Amplifikate auf Polyacrylamidgel. *A* D/D-Genotyp (135 bp); *B* I/D-Genotyp (135 und 446 bp); *C* I/I-Genotyp (446 bp); *M* Längenmarker (50 bp ladder)

oreszenz auf. Misst man nun die Fluoreszenzintensität in den Reaktionsansätzen in Abhängigkeit von der Zyklenzahl einer Real-Time-PCR, so ergibt sich eine typische logarithmische Wachstumskurve (Morrison et al. 1998). Bei Verwendung sequenzspezifischer Primer kann so bereits während der noch laufenden PCR oder im Rahmen einer nach der PCR durchgeführten Endpunktmessung die An- oder Abwesenheit eines spezifischen PCR-Produkts in den entsprechenden Reaktionsansätzen und damit das Vorhandensein oder die Abwesenheit einer definierten Mutation nachgewiesen werden.

Die Bindung dieser Farbstoffe an doppelsträngige DNA erfolgt jedoch sequenzunabhängig, was eine Ergebnisinterpretation bei Vorhandensein von unspezifischen PCR-Nebenprodukten oder Primer-Dimeren erschweren kann. Sowohl das Vorhandensein als auch die Spezifität der erhaltenen Amplifikate kann hierzu jedoch mittels einer der PCR nachgeschalteten Schmelzkurvenanalyse nachgewiesen werden (Abb. 74.3). Hierbei nutzt man die Tatsache, dass doppelsträngige DNA-Fragmente ein spezifisches, von ihrer Länge und Sequenz abhängiges Schmelzverhalten aufweisen, das durch Erhitzen des Reaktionsansatzes bei gleichzeitiger kontinuierlicher Messung der entsprechend sinkenden Fluoreszenzintensität erfasst werden kann. Hierdurch können die nachzuweisenden Amplifikate von unspezifischen PCR-Nebenprodukten bzw. von Amplifikaten einer internen Kontrollreaktion unterschieden werden (Tiemann et al. 2001).

### Verwendung fluoreszenzmarkierter Primer und Sonden

Die Anwendung fluoreszenzmarkierter Primer oder Sonden erlaubt die Durchführung von Multiplexreaktionen auch ohne die Notwendigkeit einer nachfolgenden Schmelzkurvenanalyse. Seit der Erstbeschreibung des Prinzips der Real-Time-PCR 1992 (Higuchi et al. 1992) wurde eine Vielzahl von Strategien auf der Basis von fluoreszenzbasierten Oligodeoxynukleotiden zur Durchführung von Real-Time-PCR-Analysen beschrieben (Mackay u. Landt 2007). Hierbei beruht die Generierung von Fluoreszenzsignalen im Laufe der Amplifikation meist auf der hybridisierungsbedingten Unterbrechung bzw. Ermöglichung eines Fluoreszenzresonanzenergietransfers (FRET) zwischen dem zur Analyse detektierten Reporterfluorophor und einem ebenfalls eingesetzten Quencher- bzw. Donorfluorophor (Förster 1949).

Während durch die Verwendung verschiedener Reporterfarbstoffe generell Multiplexkonfigurationen eingeführt werden können, bieten nur die sondenbasierten Systeme einen zur Signalerzeugung notwendigen, zusätzlichen sequenzspezifischen Hybridisierungsschritt, der die Spezifität der entsprechenden Methode deutlich erhöht.

Grundlage der häufig eingesetzten TaqMan-PCR ist die 5‘-3‘-Exonuklease-Aktivität der dabei verwendeten Taq-DNA-Polymerase. Bei dem hier eingesetzten Sondentyp handelt es sich um lineare Hybridisierungssonden, die mit einem Reporterfarbstoff am 5‘-Ende und einem Quencher am 3‘-Ende markiert sind. Die Länge der Sonden wird hierbei in Abhängigkeit der jeweiligen Zielsequenz so gewählt, dass sich diese innerhalb der generierten PCR-Produkte zeitlich vor den Primern anlagern. Die Verlängerung der Sonden durch die Taq-DNA-Polymerase während der Elongationsphase der PCR wird hierbei durch das Einbringen einer Phosphatgruppe am 3‘-Ende vermieden. Im Zuge der Verlängerung der Primer werden die hybridisierten Sonden durch die 5‘-3‘-Exonuklease-Aktivität der verwendeten Taq-DNA-Polymerase hydrolysiert, was eine Tren-

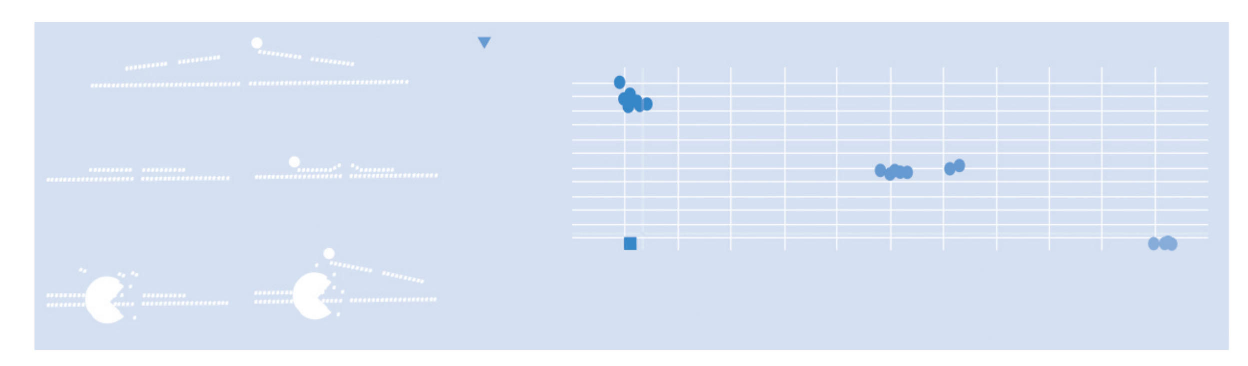


Abb. 74.4a,b. Nachweis bekannter Mutationen mittels Hydrolysierungssonden. **a** Prinzip der allelischen Diskriminierung mittels unterschiedlich markierter Hydrolysierungssonden. Nur bei vollständiger Homologie gegenüber der zu untersuchenden DNA-Sequenz kommt es zur Sondenhydrolyse mit entsprechendem Fluoreszenzsignalanstieg, **b** Nachweis der FV-Leiden-Mutation G1691A (Arg506Gln) mittels Hydrolysierungssonden und Auswertung der erhobenen Daten nach Endpunktmessung



nung von Reporter und Quencher und somit, wie bei allen Real-Time-PCR-Systemen, einen amplifikationsbedingten Anstieg spezifischer Fluoreszenzemissionen zur Folge hat (Heid et al. 1996). Auf Basis der TaqMan-PCR ist eine Genotypisierung bei Verwendung zweier unterschiedlicher Hydrolysierungssonden in einem einzigen Reaktionsansatz möglich (Abb. 74.4).

### 74.2.3 Detektion unbekannter Mutationen mittels Screeningverfahren

Die Identifizierung unbekannter Mutationen erfolgt zumindest bei großen, aus vielen Exons bestehenden Genen in der Regel durch die kombinierte Anwendung einer Screeningmethode mit nachfolgender Sequenzierung des identifizierten Genbereichs. Die am häufigsten angewandten Screeningverfahren stellen aktuell die Einzelstrang-Konformations-Polymorphismus-Analyse (»single strand conformation polymorphism analyis«, SSCP), die denaturierende Gradienten-Gelelektrophorese (»denaturating gradient gel electrophoresis«, DGGE), die Temperaturgradienten-Gelelektrophorese (»temperature gradient gel electrophoresis«, TGGE), die denaturierende Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (»denaturating high performance liquid chromatography«, dHPLC) und die hochauflösende Schmelzkurvenanalyse (»high-resolution melting curve analysis«, HRM) dar.

Während SSCP-Analysen auf dem sequenzspezifischen Laufverhalten von DNA-Einzelsträngen unter nativen Elektrophoresebedingungen beruhen, basieren DGGE-, TGGE-, dHPLC- und auch homogene HRM-Analysen vornehmlich auf sequenzspezifischen Auftrennungsmustern von doppelsträngigen Hybrid-DNA-Molekülen (Heteroduplices) unter denaturierenden Bedingungen. Die Sensitivität der vorgestellten Verfahren bezüglich des Nachweises einzelner Basenaustausche hängt neben der zu untersuchenden Sequenz selbst auch von der eingesetzten Amplifikatlänge ab. Auf Basis von Literaturdaten stellt die dHPLC-Analyse in der Gruppe der heterogenen Testverfahren aktuell die wohl zuverlässigste Methode mit annähernd 100%iger Sensitivität und Spezifität dar (Hestekin u. Barron 2006).

#### Einzelstrang-Konformations-Polymorphismus-Analyse(SSCP)

Das Prinzip der SSCP-Analyse beruht auf der sequenzspezifischen Konformation einzelsträngiger DNA-Fragmente, die zu einem definierten Laufverhalten in der Gelelektrophorese unter nicht denaturierenden Bedingungen führen. Selbst einzelne Basenaustausche in den zu untersuchenden Sequenzabschnitten können zu Änderungen der Konformationen und somit zu veränderten Bandenmustern führen (Orita et al. 1989).

#### Denaturierende und Temperaturgradienten-Gelelektrophorese(DGGE und TGGE)

Die DGGE- bzw. TGGE-Analyse basiert auf der sequenzabhängigen Auftrennung von PCR-Produkten mittels Gelelektrophorese in einem Gradienten aus aufsteigenden Konzentrationen eines denaturierenden Agens (DGGE; Fodde u. Losekoot 1994) oder ansteigender Temperatur (TGGE; Riesner et al. 1992). In Abhängigkeit von deren Schmelztemperatur führt die ansteigende Denaturierungsstärke zu einer zunehmenden Dissoziation einzelner Domänen innerhalb der zu untersuchenden doppelsträngigen DNA-Fragmente, was zu einer Verlangsamung des Laufverhaltens führt. Sequenzabhängige Unterschiede der Schmelztemperaturen einzelner Domänen führen somit zu unterschiedlicher Mobilität und dementsprechend diskriminierbaren Bandenmustern.

Die Sensitivität von DGGE- und TGGE-Analysen kann durch die Analyse von Heteroduplices entscheidend gesteigert werden. Hierzu werden die zu untersuchenden DNA-

Fragmente mit entsprechenden Wildtypsequenzen rekombiniert, was somit auch bei Vorliegen einer homozygot ausgeprägten Mutation in der Bildung von 4 unterschiedlichen Strangpaarungen resultiert. Da die entstandenen Fehlpaarungen innerhalb von 2 dieser DNA-Hybride eine deutliche Erniedrigung der Schmelzpunkte der betroffenen Domänen zur Folge haben, führt die Denaturierung eben dieser Heteroduplices zu einem deutlich von den entsprechenden Homoduplices unterscheidbaren Bandenmuster (Hestekin u. Barron 2006).

### Denaturierende Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (dHPLC)

Der Mutationsanalyse mittels dHPLC liegt die im Vergleich zu den entsprechenden Homoduplices verminderte Retentionszeit von Heteroduplices bei der Elution von einer Chromatographiesäule unter partiell denaturierenden Bedingungen zugrunde.

Nach der Amplifikation des zu untersuchenden Sequenzbereichs und erfolgter Rekombination von Proben- und Wildtypamplifikaten werden diese mit Triethylammoniumacetat (TEAA) versetzt. TEAA kommt hierbei eine Brückenfunktion bei der Bindung der DNA an eine hydrophobe stationäre Phase zu: Die amphiphilen TEAA-Moleküle binden über ihre hydrophobe Alkylkette an die Matrix der Chromatographiesäule, während die Bindung an DNA über eine Ammoniumgruppe erfolgt. Die Elution der an die Säule gebundenen DNA-Fragmente erfolgt anschließend über das organische Lösungsmittel Acetonitril, das in kontinuierlich ansteigenden Konzentrationen die Bindung zwischen der Säulenmatrix und den Alkylketten des TEAA löst. Bei einer im Vorfeld optimierten Säulentemperatur zwischen 50 und 70°C führt die somit erreichte partielle Denaturierung der doppelsträngigen DNA-Fragmente zu einer zeitlich den Homoduplices vorangehenden Elution der Heteroduplices, da diese aufgrund der nicht komplett homologen Basenpaarungen einen niedrigeren Schmelzpunkt aufweisen und somit in der betroffenen Domäne in höherer Anzahl einzelsträngig vorliegen.

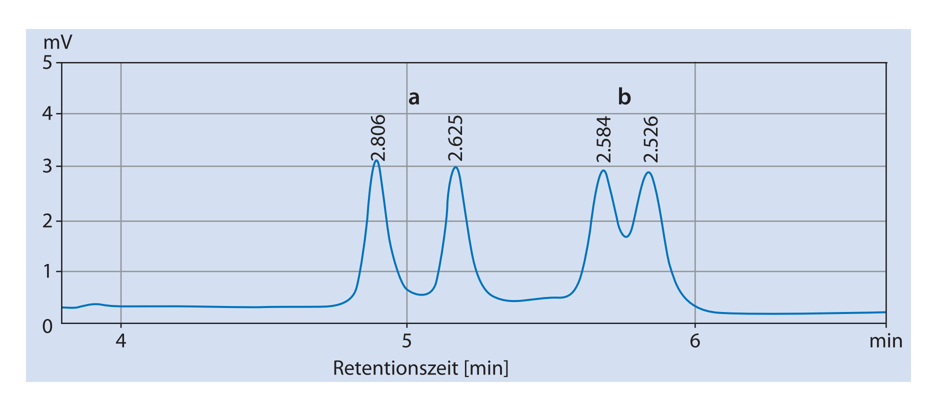
Die eluierten DNA-Fragmente werden mittels eines UV-Detektors quantitativ erfasst. Bei Vorliegen einer Mutation sollten in dem resultierenden Chromatogramm idealerweise 4 Peaks zu erkennen sein, welche die in diesem Fall vorliegenden Hetero- bzw. Homoduplices widerspiegeln (▫ Abb. 74.5). Oft sind jedoch nur 2 Peaks erkennbar, da der Unterschied der Retentionszeiten zu gering ist, um die Elutionsprofile der beiden Hetero- bzw. Homoduplices aufzulösen (Yu et al. 2006).

### Hochauflösende Schmelzkurvenanalyse (HRM)

Die Anwendung hochsättigender, nicht PCR-inhibierender DNA-Interkalationsfarbstoffe in Verbindung mit geeigneten Geräteplattformen erlaubt ein hochauflösendes Monitoring des sequenzspezifischen Schmelzverhaltens von PCR-Produkten, welches auch einzelne Basenaustausche innerhalb der zu untersuchenden Sequenzabschnitte zu detektieren vermag. Die HRM-Analyse kann hierbei in direktem Anschluss an die Amplifikation im Closed-Tube-Format erfolgen, was neben dem Vorteil eines im Vergleich zu konventionellen Screeningverfahren deutlich geringeren Arbeitsaufwands auch die Gefahr von möglichen PCR-Kontaminationen durch Amplifikate vorhergehender Untersuchungen minimiert.

Zur Durchführung von HRM-Analysen werden die Reaktionsansätze nach der Amplifikation der zu untersuchenden Sequenzbereiche erhitzt und wieder abgekühlt, um die Ausbildung von Heteroduplices bei Vorliegen einer heterozygot ausgeprägten Mutation zu ermöglichen. Anschließend erfolgt eine definierte, stetige Steigerung der Temperatur, was ein Aufschmelzen der rekombinierten DNA-Fragmente und eine entsprechende Abnahme der gemessenen Fluoreszenzintensitäten zur Folge hat.

Auch die direkte Identifizierung homozygoter Merkmalsträger mittels HRM erscheint möglich, bedingt jedoch




▫ **Abb. 74.5.** Mutationsscreening mittels dHPLC. Chromatogramm der dHPLC-Analyse eines 350 bp umfassenden PCR-Produkts. Nachweis eines einzelnen Basenaustausches nach vorheriger Rekombination der zu untersuchenden PCR-Produkte mit Wildtypamplifikaten. Heteroduplices (*a*) werden zeitlich vor den Homoduplices (*b*) von der Chromatographiesäule gelöst

eine hohe Homogenität der Temperaturgradienten in den einzelnen Messpositionen (Herrmann et al. 2006). Auch unter optimalen Bedingungen stößt die HRM-Analyse jedoch bei nur geringen Unterschieden der Schmelztemperaturen verschiedener Homoduplices an ihre Grenzen, wie es bei Austauschen A zu T bzw. G zu C und umgekehrt der Fall ist (Reed u. Wittwer 2004). Anhand von Berechnungen auf Basis der Nearest-Neighbour-Methode muss zudem davon ausgegangen werden, dass rund 25% dieser Basenaustausche in keiner Änderung des Schmelzverhaltens resultieren und somit in homozygoter Ausprägung mittels HRM nicht direkt nachweisbar sind (Liew et al. 2004). Abhilfe kann auch bei der HRM-Analyse die Rekombination mit Wildtypamplifikaten leisten, welche diese allerdings ihres Closed Tube-Charakters beraubt. Vor diesem Hintergrund ist ebenfalls die Zugabe von Wildtyp-DNA zur Proben-DNA bereits vor Durchführung der Amplifikation beschrieben worden (Laurie et al. 2007).



### 74.2.4 Identifizierung genetischer Varianten mittels Sequenzierung

Hat man mittels geeigneter Screeningverfahren den relevanten DNA-Bereich auf ein oder mehrere Gene eingegrenzt oder soll eine DNA-Probe gezielt auf Mutationen innerhalb eines definierten DNA-Abschnitts untersucht werden, so erfolgt eine DNA-Sequenzierung des entsprechenden Bereichs. Hierbei hat sich die Kettenabbruchmethode nach Sanger durchgesetzt (Sanger u. Coulson 1975).

Bei dieser Methode werden die zu untersuchenden PCR-Produkte in einer Sequenzierreaktion mit nur einem Primer linear vervielfältigt, durch Einbau von Didesoxynukleotiden (sogenannten ddNTP) kommt es hierbei zu einem Abbruch der Einzelstrangsynthese. Da dies statistisch an jeder Position des zu untersuchenden DNA-Fragments geschieht, erhält man nach Ende der Sequenzierreaktion ein Gemisch aus einzelsträngigen DNA-Fragmenten die sich in ihrer Länge um jeweils ein Nukleotid unterscheiden. Trennt man diese Fragmente der Größe nach auf, so lässt sich die DNA-Sequenz anhand der Abfolge der DNA-Fragmente ermitteln.

Bei der herkömmlichen Sequenziermethode wurden 4 verschiedene Reaktionen angesetzt, die das jeweilige ddNTP enthalten. Durch Einbau radioaktiv markierter Nukleotide, gelelektopheretischer Auftrennung und anschließendem Autoradiogramm wurden die DNA-Fragmente sichtbar gemacht. Das relativ aufwendige Handling der großformatigen Sequenziergele und der Umgang mit Radioaktivität werden heutzutage vermieden, indem moderne Sequenzierautomaten und mit verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen markierte ddNTP in Multiplexsequenzierreaktionen zum Einsatz kommen.

### 74.2.5 Detektion größerer Deletionen, Duplikationenund Inversionen

Während der Nachweis unbekannter Punktmutationen sowie kleinerer Insertionen oder Deletionen mittels der vorstehend beschriebenen Screeningverfahren bzw. Sequenzierung erfolgen kann, können diese Methoden größere Inversionen, Duplikationen aber auch heterozygote Deletionen aufgrund des Vorliegens eines zweiten Allels nicht erfassen (Pavlova et al. 2006). Andererseits ist es mit den etablierten zytogenetischen Methoden wie der fluoreszenzbasierten In-situ-Hybridisierung (»fluorescent in situ hybridization«, FISH) nicht immer möglich, nur partielle Genveränderungen aufzudecken. Der ausstehende Nachweis kann mittels eines amplifikationsunabhängigen Southern-Blot-Verfahrens erbracht werden.

Hierbei wird die zu untersuchende genomische DNA mit Restriktionsenzymen verdaut, nach elektrophoretischer Auftrennung und Übertragung auf eine Trägermatrix denaturiert und anschließend mit genspezifischen, in der Regel radioaktiv markierten Hybridisierungssonden inkubiert. Aufgrund eines zu erwartenden, veränderten Restriktionsmusters bei Vorliegen von Inversionen, Deletionen oder Duplikationen können diese über die hierdurch entsprechend veränderte Lage der markierten Restriktionsfragmente identifiziert werden. Alternativ ist es zum Nachweis von Deletionen oder Duplikationen möglich, semiquantitative Untersuchungen durchzuführen, wobei sowohl bei der Proben-DNA als auch bei einer Kontroll-DNA die Signalintensitäten der zielgenspezifischen Sonden mit denen eines Kontrollgens verglichen werden. Nachteile der Southern-Blot-Analyse sind die großen Mengen an benötigtem Untersuchungsmaterial, der niedrige Durchsatz sowie die lange Analysendauer (Armour et al. 2002).

Durch die Entwicklung PCR-basierter Untersuchungsverfahren konnte zumindest der Nachweis größerer Deletionen bzw. Duplikationen deutlich vereinfacht werden. Alle beschriebenen Methoden basieren hierbei auf der vergleichenden semiquantitativen Analyse einzelner Genabschnitte, entweder durch direkte Amplifikation oder aber durch Amplifikation von zuvor an verschiedenen Zielregionen hybridisierten DNA-Sonden. Hierbei ist aufgrund der Möglichkeit der Verwendung universeller Primer-Sequenzen der letzteren Vorgehensweise eine bessere Reproduzierbarkeit und somit auch eine höhere Sensitivität bzw. Spezifität zuzusprechen. Eine dieser Methoden stellt hierbei die »multiplex ligation-dependent probe amplification« (MLPA) dar, auf der auch aktuell kommerziell erhältliche Testkits basieren (Schouten et al. 2002).

## 74.3 Messgrößen und Befundmitteilung

Bei der Mehrzahl der zur molekularbiologischen Gerinnungsdiagnostik durchgeführten Untersuchungen handelt es sich um qualitative bzw. semiquantitative Analysen. Je nach Testverfahren liegen die Messergebnisse hierbei als Banden- bzw. Fluoreszenzsignalmuster vor, die durch entsprechend markierte DNA-Fragmente hervorgerufen werden. Bei der Analyse von Punktmutationen, Deletionen, Insertionen oder Inversionen erfolgt zur Befundmitteilung die Angabe des jeweiligen Genotyps und dessen Ausprägung in homozygoter bzw. heterozygoter Form. Die Bewertung der Befunde erfolgt anhand der in der Normalbevölkerung überwiegend vorliegenden Wildtypkonstellation und der idealerweise studienbasierten Einschätzung des patientenspezifischen Risikos auf Basis des gefundenen Genotyps.

## 74.4 Untersuchungsmaterial

Die Isolierung der zu untersuchenden genomischen DNA erfolgt in der Regel aus EDTA-Vollblut. Die Lymphozyten werden lysiert und die freigewordenen Nukleinsäuren mittels Aussalzung oder über Silica-Membran-basierte Verfahren aufgereinigt.

## 74.5 Referenzbereich und Qualitätskontrolle

Der Referenzbereich entspricht der in der Normalbevölkerung vorliegenden Wildtypkonstellation des jeweilig untersuchten Genotyps. Zumindest bei der Untersuchung bekannter Mutationen sollten entsprechende Genotypkontrollen im Rahmen der internen Qualitätskontrolle mitgeführt werden, um die Zuverlässigkeit der angewandten Methode bei jedem Lauf nachzuweisen. Für eine Vielzahl hämostaseologisch relevanter Parameter stehen inzwischen Ringversuche für die externe Qualitätskontrolle zur Verfügung. Für hier nicht verfügbare Parameter sollten regelmäßig externe Laborvergleiche durchgeführt werden.

## 74.6 Störgrößen

Alle PCR-basierten Analysen können durch PCR-Inhibitoren gestört werden. Diese beeinflussen im Allgemeinen durch direkte Interaktion mit der DNA oder durch Beeinträchtigung der thermostabilen DNA-Polymerasen die Effizienz der PCR. Zumindest bei qualitativen Untersuchungen, deren Ergebnis auf dem Ausbleiben PCR-spezifischer Reaktionsmuster basieren, sollten somit entsprechende interne Kontrollreaktionen mitgeführt werden.

## Literatur


Armour JA, Barton DE, Cockburn DJ, Taylor GR (2002) The detection of large deletions or duplications in genomic DNA. Hum Mutat 20: 325–37

Baris I, Koksal V, Etlik O (2004) Multiplex PCR-RFLP assay for detection of factor V Leiden and prothrombin G20210A. Genet Test 8: 381–3

Bertina RM, Koeleman BP, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, de Ronde H, van der Velden PA, Reitsma PH (1994) Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. Nature 369(6475): 64–7

Bier FF, von Nickisch-Rosenegk M, Ehrentreich-Förster E, Reiss E, Henkel J, Strehlow R, Andresen D (2008) DNA microarrays. Adv Biochem Eng Biotechnol 109: 433–53

Chaing SH, Wallmark A, Berntorp E, High KA (1994) A NlaIII polymorphism within the human factor VII gene. Hum Genet 93: 722–3

Dunbar SA (2006) Applications of Luminex xMAP technology for rapid, high-throughput multiplexed nucleic acid detection. Clin Chim Acta 363: 7 1–82

Duperat VG, Fauchon M, Nurden AT, Vergnes C (1998) Simple and rapid combined diagnosis of mutation (1691 G/A) of the factor V gene and (20210G/A) of the prothrombin gene. Blood Coagul Fibrinolysis 9: 549–551

Förster T (1949) Zwischenmolekulare Energiewanderung und Fluoreszenz. Ann Phys 6: 55–75

Fodde R, Losekoot M (1994) Mutation detection by denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE). Hum Mutat 3: 83–94

Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM (1996) Real time quantitative PCR. Genome Res 6: 986–994

Herrmann MG, Durtschi JD, Bromley LK, Wittwer CT, Voelkerding KV (2006) Amplicon DNA melting analysis for mutation scanning and genotyping: cross-platform comparison of instruments and dyes. Clin Chem 52: 494–503

Hestekin CN, Barron AE (2006) The potential of electrophoretic mobility shift assays for clinical mutation detection. Electrophoresis 27: 3805–15

Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R (1992) Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. Biotechnology (NY) 10: 413–7

Hou M, Rosengren-Kogan L, Forsberg B, Elmgren A, Rydberg L, Kutti J, Wadenvik H (1996) Genotyping of the platelet-specific alloantigen HPA-5 (Br(a)/Br(b)) using polymerase chain reaction with sequencespecific primers (PCR-SSP). Eur J Haematol 57: 208–13

Kowalski A, Radu D, Gold B (2000) Colorimetric microwell plate detection of the factor V Leiden mutation. Clin Chem 46: 1195–8

Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, Teo SS, Tiedt R, Passweg JR, Tichelli A, Cazzola M, Skoda RC (2005) A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. N Engl J Med 352: 1779–90

Laurie AD, Smith MP, George PM (2007) Detection of factor VIII gene mutations by high-resolution melting analysis. Clin Chem 53: 2211–4

Liew M, Pryor R, Palais R, Meadows C, Erali M, Lyon E, Wittwer C (2004) Genotyping of single-nucleotide polymorphisms by high-resolution melting of small amplicons. Clin Chem 50: 1156–64

Lohmann D, Horsthemke B, Gillessen-Kaesbach G, Stefani FH, Hofler H (1992) Detection of small RB1 gene deletions in retinoblastoma by multiplex PCR and high-resolution gel electrophoresis. Hum Genet 89: 49–53

Mackay IM (2004) Real-time PCR in the microbiology laboratory. Clin Microbiol Infect 10: 190–212
Mackay J (2007) Introduction to kinetic (real-time) PCR. Methods Mol Biol 353: 167–76
Mackay J, Landt O (2007) Real-time PCR fluorescent chemistries. Methods Mol Biol 353: 237–61
Morrison TB, Weis JJ, Wittwer CT (1998) Quantification of low-copy transcripts by continuous SYBR Green I monitoring during amplification. Biotechniques 24: 954–8, 960, 962
Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki R, Horn G, Ehrlich H (1986) Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. Cold Spring Harb Symp Quant Biol 51: 263–73
Newton CR, Graham A, Heptinstall LE, Powell SJ, Summers C, Kalsheker N, Smith JC, Markham AF (1989) Analysis of any point mutation in DNA. The amplification refractory mutation system (ARMS). Nucleic Acids Res 17: 2503–16
Orita M, Suzuki Y, Sekiya T, Hayashi K (1989) Rapid and sensitive detection of point mutations and DNA polymorphisms using the polymerase chain reaction. Genomics 5: 874–9
Pavlova A, El-Maarri O, Luxembourg B et al. (2006) Detection of heterozygous large deletions in the antithrombin gene using multiplex polymerase chain reaction and denatured high performance liquid chromatography. Haematologica 91: 1264–7
Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM (1996) A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. Blood 88(10): 3698–703
Reed GH, Wittwer CT (2004) Sensitivity and specificity of single-nucleotide polymorphism scanning by high-resolution melting analysis. Clin Chem 50: 1748–54
Riesner D, Steger G, Wiese U, Wulfert M, Heibey M, Henco K (1992) Temperature-gradient gel electrophoresis for the detection of polymorphic DNA and for quantitative polymerase chain reaction. Electrophoresis 13: 632–6
Sanger F, Coulson AR (1975) A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. J Mol Biol 94: 441–8
Schouten JP, McElgunn CJ, Waaijer R, Zwijnenburg D, Diepvens F, Pals G (2002) Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. Nucleic Acids Res 30: e57
Tiemann C, Vogel A, Dufaux B, Zimmer M, Krone JR, Hagedorn HJ (2001) Rapid DNA typing of HLA-B27 allele by real-time PCR using lightcycler technology. Clin Lab 47: 131–4
Vanguilder H, Vrana K, Freeman W (2008) Twenty-five years of quantitative PCR for gene expression analysis. Biotechniques 44: 619–26
Vary CP, Carmody M, LeBlanc R, Hayes T, Rundell C, Keilson L (1996) Allele-specific hybridization of lipoprotein lipase and factor-V Leiden missense mutations with direct label alkaline phosphatase-conjugated oligonucleotide probes. Genet Anal 13: 59–65
Wolstencroft EC, Hanlon K, Harries LW, Standen GR, Sternberg A, Ellard S (2007) Development of a quantitative real-time polymerase chain reaction assay for the detection of the JAK2 V617F mutation. J Mol Diagn 9: 42–6
Yu B, Sawyer NA, Chiu C, Oefner PJ, Underhill PA (2006) DNA mutation detection using denaturing high-performance liquid chromatography (DHPLC). Curr Protoc Hum Genet Chapter 7: Unit7.10

# 75 Hämostaseologische Referenzbereiche

## Hämostaseologische Referenzbereiche für gesunde reife Neugeborene zum Zeitpunkt der Geburt und im Verlauf der ersten 6 Monate

| Test | Tag 1 | Tag 5 | Tag 30 | Tag 90 | Tag 180 | Erwachsene |
|---|---|---|---|---|---|---|
| PT [s] | 13,0 ± 1,43 | 12,4±1,46 | 11,8±1,25 | 11,9±1,15 | 12,3±0,79 | 12,4±0,78 |
| APTT [s] | 42,9±5,80 | 42,6±8,62 | 40,4±7,42 | 37,1±6,52 | 35,5±3,71 | 33,5±3,44 |
| Thrombinzeit [s] | 23,5±2,38 | 23,1±3,07 | 24,3±2,44 | 25,1±2,32 | 25,5±2,86 | 25,0±2,66 |
| Fibrinogen [mg/dl] | 2,83±0,58 | 3,12±0,75 | 2,70±0,54 | 2,43±0,68 | 2,51±0,68 | 2,78±0,61 |
| Faktor II [U/ml] | 0,48±0,11 | 0,63±0,15 | 0,68±0,17 | 0,75±0,15 | 0,88±0,14 | 1,08±0,19 |
| Faktor V [U/ml] | 0,72±0,18 | 0,95±0,25 | 0,98±0,18 | 0,90±0,21 | 0,91±0,18 | 1,06±0,22 |
| Faktor VII [U/ml] | 0,66±0,19 | 0,89±0,27 | 0,90±0,24 | 0,91±0,26 | 0,87±0,20 | 1,05±0,19 |
| Faktor VIII [U/ml] | 1,00±0,39 | 0,88±0,33 | 0,91±0,33 | 0,79±0,23 | 0,73±0,18 | 0,99±0,25 |
| Von-Willebrand-Faktor [U/ml] | 1,53±0,67 | 1,40±0,57 | 1,28±0,59 | 1,18±0,44 | 1,07±0,45 | 0,92±0,33 |
| Faktor IX [U/ml] | 0,53±0,19 | 0,53±0,19 | 0,51±0,15 | 0,67±0,23 | 0,86±0,25 | 1,09±0,27 |
| Faktor X [U/ml] | 0,40±0,14 | 0,49±0,15 | 0,59±0,14 | 0,71±0,18 | 0,78±0,20 | 1,06±0,23 |
| Faktor XI [U/ml] | 0,38±0,14 | 0,55±0,16 | 0,53±0,13 | 0,69±0,14 | 0,86±0,24 | 0,97±0,15 |
| Faktor XII [U/ml] | 0,53±0,20 | 0,47±0,18 | 0,49±0,16 | 0,67±0,21 | 0,77±0,19 | 1,08±0,28 |
| Präkallikrein [U/ml] | 0,37±0,16 | 0,48±0,14 | 0,57±0,17 | 0,73±0,16 | 0,86±0,15 | 1,12±0,25 |
| HMWK [U/ml] | 0,54±0,24 | 0,74±0,28 | 0,77±0,22 | 0,82±0,32 | 0,82±0,23 | 0,92±0,22 |
| Faktor XIII [U/ml] | 0,79±0,26 | 0,94±0,25 | 0,93±0,27 | 1,04±0,34 | 1,04±0,29 | 1,05±0,25 |
| Antithrombin [U/ml] | 0,63±0,12 | 0,67±0,13 | 0,78±0,15 | 0,97±0,12 | 1,04±0,10 | 1,05±0,13 |
| $\alpha_2$-Makroglobulin [U/ml] | 1,39±0,22 | 1,48±0,25 | 1,50±0,22 | 1,76±0,25 | 1,91±0,21 | 0,86±0,17 |
| $\alpha_2$-Antiplasmin [U/ml] | 0,85±0,15 | 1,00±0,15 | 1,00±0,12 | 1,08±0,16 | 1,11±0,14 | 1,02±0,17 |
| $C_1$-Esteraseinhibitor [U/ml] | 0,72±0,18 | 0,90±0,15 | 0,89±0,21 | 1,15±0,22 | 1,41±0,26 | 1,01±0,15 |
| $\alpha_1$-Antitrypsin [U/ml] | 0,93±0,22 | 0,89±0,20 | 0,62±0,13 | 0,72±0,15 | 0,77±0,15 | 0,93±0,19 |
| Heparinkofaktor II [U/ml] | 0,43±0,25 | 0,48±0,24 | 0,47±0,20 | 0,72±0,37 | 1,20±0,35 | 0,96±0,15 |
| Protein C [U/ml] | 0,35±0,09 | 0,42±0,11 | 0,43±0,11 | 0,54±0,13 | 0,59±0,11 | 0,96±0,16 |
| Protein S [U/ml] | 0,36±0,12 | 0,50±0,14 | 0,63±0,15 | 0,86±0,16 | 0,87±0,16 | 0,92±0,16 |
| Plasminogen [U/ml] | 1,95±0,35 | 2,17±0,38 | 1,98±0,36 | 2,48±0,37 | 3,01±0,40 | 3,36±0,44 |

Aus: Andrew M, Paes B, Milner R et al. (1987) Development of the human coagulation system in the full-term infant. Blood 70: 165–172

## Hämostaseologische Referenzbereiche für gesunde Frühgeborene (Gestationsalter: 30–36 Wochen) zum Zeitpunkt der Geburt und im Verlauf der ersten 6 Monate

| Test | Tag 1 | Tag 5 | Tag 30 | Tag 90 | Tag 180 | Erwachsene |
|---|---|---|---|---|---|---|
| PT [s] | 13,0 (10,6–16,2) | 12,5 (10,0–15,3) | 11,8 (10,0–13,6) | 12,3 (10,0–14,6) | 12,5 (10,0–15,0) | 12,4 (10,8–13,9) |
| APTT [s] | 53,6 (27,5– 79,4) | 50,5 (26,9–74,1) | 44,7 (26,9–62,5) | 39,5 (28,3–50,7) | 37,5 (21,7–53,3) | 33,5 (26,6–40,3) |
| Thrombinzeit [s] | 24,8 (19,2–30,4) | 24,1 (18,8–29,4) | 24,4 (18,8–29,9) | 25,1 (19,4–30,8) | 25,2 (18,9–31,5) | 25,0 (19,7–30,3) |
| Fibrinogen [mg/dl] | 2,43 (1,50–3,73) | 2,80 (1,80–4,18) | 2,54 (1,50–4,14) | 2,46 (1,50–3,52) | 2,28 (1,50–3,60) | 2,78 (1,56–4,00) |
| Faktor II [U/ml] | 0,45 (0,20–0,77) | 0,57 (0,29–0,85) | 0,57 (0,36–0,95) | 0,68 (0,30–1,06) | 0,87 (0,51–1,23) | 1,08 (0,70–1,45) |
| Faktor V [U/ml] | 0,88 (0,41–1,44) | 1,00 (0,46–1,54) | 1,02 (0,48–1,56) | 0,99 (0,59–1,39) | 1,02 (0,58–1,46) | 1,06 (0,62–1,50) |
| Faktor VII [U/ml] | 0,67 (0,21–1,13) | 0,84 (0,30–1,38) | 0,83 (0,21–1,45) | 0,87 (0,31–1,43) | 0,99 (0,47–1,51) | 1,05 (0,67–1,43) |
| Faktor VIII [U/ml] | 1,11 (0,50–2,13) | 1,15 (0,53–2,05) | 1,11 (0,50–1,99) | 1,06 (0,58–1,88) | 0,99 (0,50–1,87) | 0,99 (0,50–1,49) |
| Von-Willebrand-Faktor [U/ml] | 1,36 (0,78–2,10) | 1,33 (0,72–2,19) | 1,36 (0,66–2,16) | 1,12 (0,75–1,84) | 0,98 (0,54–1,58) | 0,92 (0,50–1,58) |
| Faktor IX [U/ml] | 0,35 (0,19–0,65) | 0,42 (0,14–0,74) | 0,44 (0,13–0,80) | 0,59 (0,25–0,93) | 0,81 (0,50–1,20) | 1,09 (0,55–1,83) |
| Faktor X [U/ml] | 0,41 (0,11–0,71) | 0,51 (0,19–0,83) | 0,56 (0,20–0,92) | 0,67 (0,35–0,99) | 0,77 (0,35–1,19) | 1,06 (0,70–1,52) |
| Faktor XI [U/ml] | 0,30 (0,08–0,52) | 0,41 (0,13–0,69) | 0,43 (0,15–0,71) | 0,59 (0,25–0,93) | 0,78 (0,46–1,10) | 0,97 (0,67–1,27) |
| Faktor XII [U/ml] | 0,38 (0,10–0,66) | 0,39 (0,09–0,69) | 0,43 (0,11–0,75) | 0,61 (0,15–1,07) | 0,82 (0,22–1,42) | 1,08 (0,52–1,64) |
| Präkallikrein [U/ml] | 0,33 (0,09–0,57) | 0,45 (0,26–0,75) | 0,59 (0,31–0,87) | 0,79 (0,37–1,21) | 0,78 (0,40–1,16) | 1,12 (0,62–1,62) |
| HMWK [U/ml] | 0,49 (0,09–0,89) | 0,62 (0,24–1,00) | 0,64 (0,16–1,12) | 0,78 (0,32–1,24) | 0,83 (0,41–1,25) | 0,92 (0,50–1,36) |
| Faktor XIII [U/ml] | 0,70 (0,32–1,08) | 1,01 (0,57–1,45) | 0,99 (0,51–1,47) | 1,13 (0,71–1,55) | 1,13 (0,56–1,61) | 1,05 (0,55–1,55) |
| Antithrombin [U/ml] | 0,38 (0,14–0,62) | 0,56 (0,30–0,82) | 0,59 (0,37–0,81) | 0,83 (0,45–1,21) | 0,90 (0,52–1,28) | 1,05 (0,79–1,31) |
| $\alpha_2$-Makroglobulin [U/ml] | 1,10 (0,56–1,82) | 1,25 (0,71–1,77) | 1,38 (0,72–2,04) | 1,80 (1,20–2,66) | 2,09 (1,10–3,21) | 0,86 (0,52–1,20) |
| $\alpha_2$-Antiplasmin [U/ml] | 0,78 (0,40–1,61) | 0,81 (0,49–1,13) | 0,89 (0,55–1,23) | 1,06 (0,64–1,48) | 1,15 (0,77–1,53) | 1,02 (0,68–1,36) |
| $C_1$-Esteraseinhibitor [U/ml] | 0,65 (0,31–0,99) | 0,83 (0,45–1,21) | 0,74 (0,44–1,24) | 1,14 (0,60–1,68) | 1,40 (0,96–2,04) | 1,01 (0,71–1,31) |
| $\alpha_1$-Antitrypsin [U/ml] | 0,90 (0,36–1,44) | 0,94 (0,42–1,46) | 0,76 (0,38–1,12) | 0,81 (0,49–1,13) | 0,82 (0,48–1,16) | 0,93 (0,55–1,31) |
| Heparinkofaktor II [U/ml] | 0,32 (0,00–0,60) | 0,34 (0,00–0,69) | 0,43 (0,15–0,71) | 0,61 (0,20–1,11) | 0,89 (0,45–1,40) | 0,96 (0,66–1,26) |
| Protein C [U/ml] | 0,28 (0,12–0,44) | 0,31 (0,11–0,51) | 0,37 (0,15–0,59) | 0,45 (0,23–0,67) | 0,57 (0,31–0,83) | 0,96 (0,64–1,28) |
| Protein S [U/ml] | 0,28 (0,14–0,38) | 0,37 (0,13–0,61) | 0,56 (0,22–0,90) | 0,76 (0,40–1,12) | 0,82 (0,44–1,20) | 0,92 (0,60–1,24) |
| Plasminogen [U/ml] | 1,70 (1,12–2,48) | 1,91 (1,21–2,61) | 1,81 (1,09–2,53) | 2,38 (1,58–3,18) | 2,75 (1,91–3,59) | 3,36 (2,48–4,24) |

Aus: Andrew M, Paes B, Milner R et al. (1987) Development of the human coagulation system in the full-term infant. Blood 70: 165–172

## Hämostaseologische Referenzbereiche von Erwachsenen unter Berücksichtigung test- und gerätespezifischer Eigenschaften (entsprechend Herstellerangaben, Stand September 2009)

Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde auf die Einfügung des Trademark-Zeichens® bei der Nennung der Reagenzien und der Geräte verzichtet.

Wenn möglich, sollte jedes Labor eigene Referenzbereiche ermitteln und die angegebenen Daten nur zur Orientierung verwenden, da die jeweiligen Referenzbereiche von den verwendeten Testsystemen und der eingesetzten Charge abhängen.



| Test | Gerät | Reagens | Hersteller | Referenzbereich |
|---|---|---|---|---|
| Quick-Wert [%] | ACL TOP | HemosIL RecombiPlasTin 2G | IL | 70–130 |
| | STA-R Evolution/ STA Compact | STA Neoplastin Plus | Roche | >70 |
| PT [s] | CA-7000 | Thromborel S | Siemens | 10,4–12,6 |
| | CA-1500 | Thromborel S | Siemens | 10,2–12,4 |
| | CA-500 | Thromborel S | Siemens | 10,1–12,3 |
| | BCS/BCS-XP | Dade Innovin | Siemens | 7,8–9,4 |
| | CA-7000 | Dade Innovin | Siemens | 10,4–12,6 |
| | CA-1500 | Dade Innovin | Siemens | 9,9–11,6 |
| | CA-500 | Dade Innovin | Siemens | 9,9–11,6 |
| Hepato-Quick-Wert [%] | STA-R Evolution/ STA Compact | STA Hepato Quick | Roche | > 70 |
| APTT [s] | ACL TOP | HemosIL APTT-SP | IL | 25,4–36,9 |
| | ACL TOP | HemosIL SynthASil | IL | 25,1–36,5 |
| | BCS/BCS-XP | Actin | Siemens | 22,8–31,0 |
| | BCS/BCS-XP | Actin FS Reagenz | Siemens | 23,0–31,9 |
| | BCS/BCS-XP | Actin FSL Reagenz | Siemens | 25,3–33,8 |
| | BCS/BCS-XP | Pathromtin° SL | Siemens | 25,9–36,6 |
| | STA-R Evolution/ STA Compact | STA APTT | Roche | 26–40 |
| | STA-R Evolution/ STA Compact | STA APTT Kaolin | Roche | 24–33 |
| | STA-R Evolution/ STA Compact | STA Cephascreen | Roche | 24–35 |
| | BCS/BCS-XP | Actin | Siemens | 22,8–31,0 |
| | CA-7000 | Actin | Siemens | 21,5–30,5 |
| | CA-7000 | Actin | Siemens | 22,7–31,8 |
| | CA-1500 | Actin | Siemens | 21,4–30,6 |
| | CA-7000 | Actin FS Reagenz | Siemens | 22,3–28,2 |
| | CA-1500 | Actin FS Reagenz | Siemens | 22,1–28,1 |
| | CA-500 | Actin FS Reagenz | Siemens | 21,8–28,0 |
| | CA-7000 | Actin FSL Reagenz | Siemens | 25,6–32,0 |

| Test | Gerät | Reagens | Hersteller | Referenzbereich |
|---|---|---|---|---|
| APTT [s] | CA-1500 | Actin FSL Reagenz | Siemens | 25,0–31,3 |
| | CA-500 | Actin FSL Reagenz | Siemens | 24,5–32,8 |
| | CA-7000 | Pathromtin° SL | Siemens | 26,1–36,1 |
| | CA-1500 | Pathromtin° SL | Siemens | 26,4–37,5 |
| | CA-500 | Pathromtin° SL | Siemens | 29,0–40,2 |
| Thrombinzeit [s] | ACL TOP | HemosIL Thrombinzeit (3,0 UNIH/ml) | IL | 10,3–16,6 |
| | ACL TOP | HemosIL Thrombinzeit (1,9 UNIH/ml) | IL | 15,8–24,9 |
| | STA-R Evolution/ STA Compact | STA Thrombin (Normalbestimmung) | Roche | < 21 |
| | STA-R Evolution/ STA Compact | STA Thrombin (Heparinbestimmung) | Roche | < 13 |
| | BCT | BC Thrombin Reagent | Siemens | <21 |
| | CA-7000 | Test Thrombin Reagent | Siemens | 14,7–17,2 |
| | CA-1500 | Test Thrombin Reagent | Siemens | 15,3–17,3 |
| | CA-500 | Test Thrombin Reagent | Siemens | 14,7–17,0 |
| | BCS/BCS-XP | Thromboclotin:<br>Test 98 (für Proben mit Heparingehalt bis 0,1 U/ml)<br>Test 99 (für Proben mit Heparingehalt bis 0,4 U/ml) | Siemens | Proben mit Heparingehalt bis 0,1 IU/ml: 14,2–17,9<br>Proben mit Heparingehalt bis 0,4 IU/ml: 10,0–12,7 |
| Batroxobinzeit [s] | CA-7000 | Batroxobin Reagent | Siemens | 17,4–20,0 |
| | CA-1500 | Batroxobin Reagent | Siemens | 17,7–19,9 |
| | CA-500 | Batroxobin Reagent | Siemens | 16,7–18,9 |
| Antithrombin [%] | STA-R Evolution/ STA Compact | STA Reptilase | Roche | <20 |
| | ACL TOP | HemosIL Antithrombin liquid | IL | 83–128 |
| | STA-R Evolution/ STA Compact | STA Antithrombin | Roche | 80–120 |
| | CA-7000 | INNOVANCE* Antithrombin | Siemens | 85–115 |
| | CA-1500 | INNOVANCE* Antithrombin | Siemens | 80–111 |
| | CA-500 | INNOVANCE* Antithrombin | Siemens | 83–111 |
| Protein C, chromogen [%] | BCS/BCS-XP<br>CA-7000<br>CA-1500<br>CA-500 | Berichrom Protein C | Siemens | 70–140* |
| | ACL TOP | HemosIL Protein C | IL | 70–140 |
| | STA-R Evolution/ STA Compact | STA Protein C chromogen | Roche | 70–130 |

▼

| Test | Gerät | Reagens | Hersteller | Referenzbereich |
|---|---|---|---|---|
| Protein C, clotting [%] | ACL TOP | HemosIL ProClot | IL | 70–140 |
| | STA-R Evolution/ STA Compact | STA Protein C Clotting | Roche | 70–130 |
| | BCS/BCS-XP CA-7000 CA-1500 CA-500 | Protein C Reagent | Siemens | 70–140* |
| Freies Protein S [%] | ACL TOP | HemosIL Freies Protein S | IL | Frauen: 54,7–123,7 Männer: 74,1–146,1 |
| | STA-R Evolution/ STA Compact | STA LIATEST Free Protein S | Roche | Frauen: 50–134 Männer: 70–148 |
| Protein S [%] | ACL TOP | HemosIL ProS | IL | 76–135 |
| | STA-R Evolution/ STA Compact | STA Protein S Clotting | Roche | Frauen: 55–123 Männer: 77–143 |
| | BCS/BCS-XP | Protein S Ac | Siemens | 58,0–127,5 |
| | CA-7000 | Protein S Ac | Siemens | >59,5 |
| | CA-1500 | Protein S Ac | Siemens | >60,2 |
| Plasminogen [%] | ACL TOP | HemosIL Plasminogen | IL | 80,2–132,5 |
| | STA-R Evolution/ STA Compact | STA Plasminogen | Roche | 80–120 |
| | BCS/BCS-XP CA-7000 CA-1500 | Berichrom Plasminogen | Siemens | 75–150* |
| $\alpha_2$-Antiplasmin [%] | ACL TOP | HemosIL Plasmin Inhibitor | IL | 98–122 |
| | BCS/BCS-XP CA-7000 CA-1500 | Berichrom α2-Antiplasmin | Siemens | 80–120* |
| | STA-R Evolution/ STA Compact | STA Antiplasmin | Roche | 80–120 |
| Fibrinogen, abgeleitet [mg/dl] | ACL TOP | HemosIL RecombiPlasTin 2G | IL | 276–471 |
| Fibrinogen (Clauss) [mg/dl] | ACL TOP | HemosIL Fibrinogen-C | IL | 238–498 |
| | STA-R Evolution/ STA Compact | STA Fibrinogen | Roche | 200–400 |
| Fibrinogen [g/l] | CA-7000 | Multifibren* U | Siemens | 1,9–3,9 |
| | CA-1500 | Multifibren* U | Siemens | 2,0–3,7 |
| | CA-500 | Multifibren* U | Siemens | 1,9–3,5 |
| | CA-7000 | Dade Thrombin Reagent | Siemens | 2,0–3,4 |
| | CA-1500 | Dade Thrombin Reagent | Siemens | 2,0–3,4 |
| | CA-500 | Dade Thrombin Reagent | Siemens | 2,1–3,6 |

▼

| Test | Gerät | Reagens | Hersteller | Referenzbereich |
|---|---|---|---|---|
| Faktor II [%] | ACL TOP | HemosIL Faktor II | IL | 79–131 |
| | STA-R Evolution/<br>STA Compact | STA Faktor II | Roche | 70–120 |
| | BCS/BCS-XP<br>CA-7000<br>CA-1500 | Coagulation Factor II Deficient Plas-<br>ma | Siemens | 70–120* |
| Faktor V [%] | ACL TOP | HemosIL Faktor V | IL | 62–139 |
| | STA-R Evolution/<br>STA Compact | STA Faktor V | Roche | 70–120 |
| | BCS/BCS-XP<br>CA-7000<br>CA-1500 | Coagulation Factor V Deficient<br>Plasma | Siemens | 70–140* |
| Faktor VII [%] | ACL TOP | HemosIL Faktor VII | IL | 50–129 |
| | STA-R Evolution/<br>STA Compact | STA Faktor VII | Roche | 55–170 |
| | BCS/BCS-XP<br>CA-7000<br>CA-1500<br>CA-500 | Coagulation Factor VII Deficient<br>Plasma | Siemens | 70–120* |
| Faktor X [%] | ACL TOP | HemosIL Faktor X | IL | 77–131 |
| | STA-R Evolution/<br>STA Compact | STA Faktor X | Roche | 70–120 |
| | BCS/BCS-XP<br>CA-7000<br>CA-1500 | Coagulation Factor X Deficient<br>Plasma | Siemens | 70–120* |
| Faktor VIII [%] | ACL TOP | HemosIL Faktor VIII | IL | 50–150 |
| | STA-R Evolution/<br>STA Compact | STA Faktor VIII | Roche | 60–150 |
| | BCS/BCS-XP<br>CA-7000<br>CA-1500<br>CA-500 | Coagulation Factor VIII Deficient<br>Plasma | Siemens | 70–150* |
| Faktor IX [%] | ACL TOP | HemosIL Faktor IX | IL | 65–150 |
| | STA-R Evolution/<br>STA Compact | STA Faktor IX | Roche | 60–150 |
| | BCS/BCS-XP<br>CA-7000<br>CA-1500 | Coagulation Factor IX Deficient<br>Plasma | Siemens | 70–120* |
| Faktor XI [%] | ACL TOP | HemosIL Faktor XI | IL | 65–150 |
| | STA-R Evolution/<br>STA Compact | STA Faktor XI | Roche | 60–150 |
| ▼ | BCS/BCS-XP<br>CA-7000<br>CA-1500 | Coagulation Factor XI Deficient<br>Plasma | Siemens | 70–120* |

| Test | Gerät | Reagens | Hersteller | Referenzbereich |
|---|---|---|---|---|
| Faktor XII [%] | ACL TOP | HemosIL Faktor XII | IL | 50–150 |
| | STA-R Evolution/ STA Compact | STA Faktor XII | Roche | 60–150 |
| | BCS/BCS-XP CA-7000 CA-1500 | Coagulation Factor XII Deficient Plasma | Siemens | 70–150* |
| Faktor XIII [%] | ACL TOP | HemosIL Faktor XIII Antigen | IL | 75,2–154,8 |
| | STA-R Evolution/ STA Compact | HEXAMATE Faktor XIII (immunologisch) | Roche | 60–125 |
| | BCS/BCS-XP | Berichrom FXIII | Siemens | 70–140* |
| D-Dimer [mg/l FEU] | ACL TOP | HemosIL D-Dimer HS | IL | 0,5 |
| | BCS/BCS-XP | INNOVANCE* D-Dimer | Siemens | ≤0,55 |
| | STA-R Evolution/ STA Compact | STA LIATEST D-Di | Roche | < 0,5 |
| | CA-7000 | INNOVANCE* D-Dimer | Siemens | 0,55 |
| | CA-1500 | INNOVANCE* D-Dimer | Siemens | 0,55 |
| | CA-500 | INNOVANCE* D-Dimer | Siemens | 0,55 |
| Lupusantikoagulans | ACL TOP | HemosIL LAC Screen/LAC Confirm | IL | Normalisierte Ratio: 0,9–1,1 |
| Lupusantikoagulans | STA-R Evolution/ STA Compact | STA Staclot dRVV Screen/ STA Staclot dRVV Confirm | Roche | Normalisierte Ratio: <1,2 |
| Silica Clotting Time | ACL TOP | HemosIL SCT Screen/SCT Confirm | IL | Ratio: 0,84–1,16 |
| Lupusantikoagulans [s] | BCS/BCS-XP | Screening-Reagenz LA1/Bestätigungsreagenz LA2 | Siemens | Screeningreagens LA1: 30,5–40,6 Bestätigungsreagens LA2: 26,4–31,0 LA1/LA2-Ratio: 1,09–1,37 |
| | CA-7000 | Screening-Reagenz LA1/Bestätigungsreagenz LA2 | Siemens | Screeningreagens LA1: 29,1–43,5 Bestätigungsreagens LA2: 31,2–36,1 LA1/LA2-Ratio: 0,9–1,23 |
| | CA-1500 | Screening-Reagenz LA1/Bestätigungsreagenz LA2 | Siemens | Screeningreagens LA1: 29,6–38,9 Bestätigungsreagens LA2: 33,2–37,8 LA1/LA2-Ratio: 0,87–1,07 |
| | CA-500 | Screening-Reagenz LA1/Bestätigungsreagenz LA2 | Siemens | Screeningreagens LA1: 35,8–47,8 Bestätigungsreagenz LA2: 33,3–39,3 LA1/LA2-Ratio: 1,01–1,26 |

▼

| Test | Gerät | Reagens | Hersteller | Referenzbereich |
|---|---|---|---|---|
| APC-Resistenz [Ratio] | ACL TOP | HemosIL APC-Resistance V | IL | Cut off: 2,2 (chargenspezifisch)<br>Ratio: 2,61–3,32 |
| | BCS/BCS-XP | ProC Ac R, | Siemens | 2,91–5,03<br>Cut off = 1,8 |
| | STA-R Evolution/<br>STA Compact | Pefakit APC-R | Roche | ≥2,9, heterozygot: 1,3–1,8,<br>homozygot: 0,9–1,1 |
| | CA-7000 | ProC Ac R, | Siemens | 2,98–4,83<br>Cut off = 1,8 |
| | CA-1500 | ProC Ac R, | Siemens | 2,85–4,71<br>Cut off = 1,8 |
| vWF-Antigen [%] | ACL TOP | HemosIL VWF:Ag | IL | Blutgruppe 0: 42,0–140,8<br>Blutgruppe A/B/AB: 66,1–176,3 |
| | STA-R Evolution/<br>STA Compact | STA LIATEST vWF | Roche | Alle Blutgruppen: 50–160 |
| | BCS/BCS-XP | VWF Ag° | Siemens | Alle Blutgruppen: 57,6–174,1<br>Blutgruppe 0: 51,0–133,3<br>Non-0 Blutgruppen: 69,0–179,6 |
| | CA-7000 | VWF Ag* | Siemens | Alle Blutgruppen: 64,4–163,7<br>Blutgruppe 0: 62,1–143,5<br>Non-0 Blutgruppen: 73,9–185,1 |
| | CA-1500 | VWF Ag* | Siemens | Alle Blutgruppen: 57,3–153,3<br>Blutgruppe 0: 54,0–133,8<br>Non-0 Blutgruppen: 68,5–159,4 |
| | CA-500 | VWF Ag* | Siemens | Alle Blutgruppen: 61,7–178,1<br>Blutgruppe 0: 59,4–145,3<br>Non-0 Blutgruppen: 70,6–183,7 |
| vWF-Aktivität [%] | ACL TOP | HemosIL VWF Aktivität | IL | Blutgruppe 0: 40,3–125,9<br>Blutgruppe A/B/AB: 48,8–163,4 |
| | ELISA | Asserachrom vWF:CB | Roche | Alle Blutgruppen: 64–155<br>Blutgruppe 0: 62–138<br>Non-0 Blutgruppen: 86–160 |
| Von-Willebrand-Faktor-Ristocetinkofaktor-Aktivität [%] | BCS/BCS-XP | BC von Willebrand Reagenz | Siemens | Alle Blutgruppen: 58–172<br>Blutgruppe 0: 49–142<br>Non-0 Blutgruppen: 66–183 |
| TAT [µg/l] | ELISA | Enzygnost TAT micro | Siemens | <2–4,2 |
| F1+2 [pmol/l] | ELISA | Enzygnost F1+2 (monoclonal) | Siemens | 69–229 |
| Homocystein [µmol/l] | ACL TOP | HemosIL Homocystein | IL | 4,3–11,1 |

*Referenzbereiche aus der Literatur entnommen

# Stichwortverzeichnis

## A

## B



## C



## D

## E



## F



## H





## I









## L

## M



## N







## P

## Q



## R



## S

## T



















